



Complexes click de platine et cuivre-NHC : applications en biologie

Aurélien Chevy

► To cite this version:

Aurélien Chevy. Complexes click de platine et cuivre-NHC : applications en biologie. Autre. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011. Français. <NNT : 2011CLF22101>. <tel-00653371>

HAL Id: tel-00653371

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00653371>

Submitted on 19 Dec 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : DU : 2101

UNIVERSITE BLAISE PASCAL

U.F.R. Sciences et Technologies

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

N° 662

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Chimie organique

Par

Aurélien CHEVRY

<p>Complexes click de platine et cuivre-NHC : applications en biologie</p>

Soutenue publiquement le 11 janvier 2011, devant la commission d'examen.

Membres du jury

Mme. Popowycz Florence, Maître de conférences, ICBMS-Université Claude Bernard
M. Pellet-Rostaing Stéphane, Directeur de Recherche, ICSM-CEA Bagnols-sur-Cèze
M. Aitken David, Professeur des Universités, LSOM-ICMMO-Université Paris Sud
M. Beaudoin Claude, Professeur des Universités, GReD-Université Blaise Pascal
M. Gautier Arnaud, Chargé de Recherche, SEESIB-Université Blaise Pascal

Laboratoire Synthèse Et Etudes de Systèmes d'Intérêt Biologique – UMR CNRS 6504
24 Avenue des Landais- 63171 AUBIERE

RESUME

La cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le cuivre(I) entre un azoture et un alcyne (CuAAC), réaction de « chimie click » par excellence, suscite un grand intérêt en raison de son efficacité et de sa versatilité. L'objectif premier de cette thèse est d'appliquer cette réaction pour l'élaboration de structures 1,2,3-triazoles fonctionnalisées, en vue d'obtenir des ligands jouant le rôle de « pince à platine ». Les complexes de platine biologiquement actifs rapportés sont de type mono- ou bi-nucléaire et comportent un ou deux cycles triazole. Les complexes obtenus ont fait l'objet d'une étude *in vitro* d'interaction avec des nucléosides et de l'ADN soit sous forme d'hairpin (épingle à cheveux) soit sous forme plasmidique. Nos complexes ont montrés une réactivité similaire à celle du cisplatine, qui est la métallodrogue de référence.

En parallèle, nous présentons les propriétés catalytiques et biologiques de complexes cuivre(I)-NHC (Carbène *N*-Hétérocyclique), dérivés du [CuCl(SIMes)], mis au point par Nolan *et al.* Dans un premier temps, un criblage d'activités catalytiques a été réalisé avec divers additifs aromatiques azotés afin d'améliorer l'efficacité de la CuAAC. Dans un deuxième temps, la cytotoxicité et l'activité antitumorale du complexe [CuCl(SIMes)] ont été considérées sur plusieurs lignées cellulaires. Nous rapportons ici, le premier exemple de cuivre(I)-NHC biologiquement actif, présentant une activité largement supérieure à celle du cisplatine. Enfin, la réactivité de ce complexe avec de l'ADN plasmidique a été évaluée *in vitro* et nous rapportons sa capacité à couper l'ADN.

Mots-clés : Chimie click, catalyse, complexes de platine, cuivre(I)-NHC, agents anticancéreux, interaction ADN.

ABSTRACT

The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC), a "click chemistry" reaction, is of a great interest thanks to its efficiency and versatility. The present work aims to use this reaction for the elaboration of new functionalised 1,2,3-triazole, as "pincer ligand" to platinum. We have synthesized mono- or binuclear platinum anticancer complexes that contain one or two triazole cycles. These complexes were subject to *in vitro* tests, in order to investigate the interactions they can establish with both nucleosides and DNA. The results reveal a reactivity similar to cisplatin, the reference metallodrug.

In parallel, we present the catalytic and biological properties of copper(I)-NHC complexes, like [CuCl(SIMes)] developed by Nolan *et al.* At first, a screening of the catalytic activity was realized with diverse nitrogen aromatics additives in order to improve the CuAAC efficiency. Secondly, the cytotoxicity and antitumoral activity of [CuCl(SIMes)] were considered on various cancer cell lines. We report here, the first example of a biologically active copper(I)-NHC, this complexe exhibiting a superior activity than cisplatin. Finally, the reactivity of this copper(I)-NHC with DNA was evaluated *in vitro* and highlights its capacity to cleave DNA.

Key-words: Click chemistry, catalysis, platinum complexes, copper(I)-NHC, anticancer agents, interaction DNA.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	11
Chapitre I : Etude Bibliographique	13
I.1. Introduction :.....	13
I.2. Complexes de platine : « alkylation » de l'ADN	15
I.2.1 Cisplatine, historique.	15
I.2.2 Cisplatine, chimiothérapie.	17
I.2.3 Cisplatine, mode d'action et réactivité.	17
I.2.4 Cisplatine, phénomènes de résistance	21
I.2.5 Cisplatine, analogues utilisés en chimiothérapie	24
I.2.6 Nouvelles générations de complexes de platine.	25
I.2.6.a Les complexes de platine mononucléaires	25
I.2.6.b Les complexes de platine polynucléaires.....	30
I.3. Complexes de cuivre : coupure oxydative de l'ADN	35
I.3.1 Coupure oxydative (généralité).....	35
I.3.2 Mécanisme de coupure de l'ADN par le complexe $[Cu^{I/II}(phen)_2]^{+/2+}$	37
I.3.3 Exemples de complexes basés sur le système $Cu(phen)_2$	41
I.3.4 Autres exemples de complexes de cuivre pouvant provoquer une coupure de l'ADN	44
I.4. Chimie click : Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire alcyne-azoture catalysé par le cuivre(I).	46
I.4.1 Le concept de la chimie click.....	46
I.4.2 Cycloadditions de Huisgen	47
I.4.3 Les sources de cuivre pour la cycloaddition 1,3-dipolaire azoture-alcyne catalysée par le cuivre (I) (CuAAC)	48
I.4.3.a Formation du catalyseur cuivre(I) par réduction des sels de cuivre(II).	49
I.4.3.b Formation du catalyseur Cu(I) par addition de sels de Cu(I).....	53
I.4.3.c Catalyseurs Cu(I) stables.....	54
I.4.3.d Autres sources de cuivre	56
I.4.4 Applications de la cycloaddition CuAAC.....	57
I.4.4.a Les triazoles comme bioisostères	57
I.4.4.b Concept 'peptides modifiés'	57
I.4.4.c Conjugaison de molécules.....	60
I.4.4.d Produits naturels modifiés.....	60
I.4.4.e Synthèses de dendrimères	61
I.4.4.f Immobilisation de molécules sur un support	62
I.4.4.g Concept de réaction click in situ	62
I.4.4.h Concept de ligand click pour chélater les métaux.....	63
I.4.4.i Réactions de CuAAC fluorogéniques.....	66
I.4.4.j Concept de marquage des systèmes cellulaires	67
Chapitre II : Synthèses de nouveaux ligands du platine par « chimie Click »	69
II.1. Introduction	69
II.2. Synthèses des ligands bidentes comportant un cycle 1,2,3-triazole..	72
II.2.1 Synthèses des ligands triazoles avec une chaîne amide.....	73

II.2.1.a Acylation d'amine : formation des chaînes amides	74
II.2.1.b Synthèse des précurseurs azotures	75
II.2.1.c Synthèse des triazoles	76
II.2.2 Synthèses des ligands triazoles avec une modification de la pince	79
II.2.2.a Variation de l'amine participant à la chélation	79
II.2.2.b Synthèse d'un ligand triazole tridenté	80
II.2.3 Synthèse d'un ligand triazole « inversé »	81
II.3. Synthèses des ligands bis -triazole.....	82
II.3.1 Synthèses des ligands bis-triazoles possédant un pont aliphatique	83
II.3.2 Synthèse d'un ligand bis-triazole avec un pont aliphatique intégrant une amine... ..	85
II.3.3 Synthèses de ligands bis-triazole possédant un pont ammonium	86
II.3.4 Synthèse d'un ligand bis-triazole inversé avec un pont di-ammonium	90
II.4. Conclusion	91
 Chapitre III : Préparation de complexes de platine avec des ligands 1,2,3- triazole.	 93
III.1. Introduction	93
III.2. Préparation des complexes mononucléaire de platine.....	96
III.2.1 Complexes mononucléaires de platine avec les ligands triazole-amine portant une chaîne amide.....	96
III.2.2 Complexes mononucléaire de platine avec des ligands triazole-amine alkylés....	97
III.2.3 Complexes avec le ligand bidenté triazole-amine 28 et différentes sources métalliques.	98
III.2.4 Complexe palladié avec le ligand 28.....	99
III.2.5 Complexe mononucléaire de platine avec le ligand tridenté triazole-diamine. ..	100
III.2.6 Complexe mononucléaire de platine avec le ligand triazole inversé.	101
III.3. Préparation des complexes binucléaires de platine	102
III.3.1 Complexes binucléaires de platine comportant des ligands bis-bidentes bis- triazole à pont aliphatique.	102
III.3.2 Complexe binucléaires de platine comportant le ligand bis-tridentes bis-triazole à pont aliphatique.	103
III.3.3 Complexes binucléaires de platine comportant des ligands bis-bidentes bis- triazole à pont ammonium aliphatique.	103
III.3.4 Complexe binucléaire de platine comportant des ligands bis- bis-bidentes bis- triazole inversé à pont di-ammonium	106
III.3.5 Conclusion.....	107
 Chapitre IV : Réactivité des complexes avec l'ADN	 109
IV.1. Introduction	108
IV.2. Interaction des complexes métalliques (Pt, Pd) avec la guanosine.108	
IV.3. Interaction des complexes métalliques (Pt, Pd) avec l'ADN plasmidique surenroulé.	114
IV.4. Interaction du complexe métallique (Pt) avec l'ADN en structure hairpin.	116
IV.4.1 Rappel bibliographique	116
IV.4.2 Interaction du complexe de platine 1 avec l'hairpin	118
IV.5. Conclusion.....	121

Chapitre V : Le complexe [CuCl(SIMes)] : Catalyseur pour la CuAAC, activités biologiques.	122
V.1. Introduction.....	123
V.2. Activité catalytique du [CuCl(SIMes)] pour la CuAAC et amélioration du système par addition de ligand donneur d'atomes N. .	124
V.2.1 Criblage d'activité des cuivre(I)-NHC	124
V.2.2 Criblage d'activité du [CuCl(SIMes)] en présence d'additifs chélatant le métal.	125
V.3. Toxicité du complexe cuivre(I)-NHC contre les cellules tumorales humaines, arrêt du cycle cellulaire, apoptose et induction de la coupure de l'ADN.....	134
V.3.1 Toxicité du complexe cuivre(I)-NHC	134
V.3.2 Induction de la coupure de l'ADN par le complexe cuivre(I)-NHC <i>in vitro</i>	137
V.4. Conclusion	140
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	141
PARTIE EXPERIMENTALE.....	143
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	185

ABBREVIATIONS

4-DMAP : 4-(diméthylamino)pyridine

5-MF : 5-méthylfurannone

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AcONH₄ : acétate d'ammonium

Bathophen : bathophénanthroline.

BER : Base Excision Repair

CuAAC : *Copper(I)-Catalysed Alkyne-Azide Cycloaddition*. Cycloaddition azoture-alcyne catalysée par la cuivre(I)

DIPEA : *N,N*-diisopropyléthylamine

DMAP : 4-diméthylaminopyridine

DMF : *N,N'*-diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EDTA : EthylèneDiamineTetraAcétate

EPR : *Enhanced Permeability and Retention*

ESI : *ElectroSpray Ionisation*

FT-IR : *Fourier Transform InfraRed Spectroscopy*. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

GSH : Glutathion

HMG : *High Mobility Group*

HPLC : *High-Performance Liquid Chromatography*. Chromatographie liquide à haute performance.

HR: *Homologous Recombination*

HSAB : *Hard and Soft Acids and Bases*. Acides et bases durs et mous.

HR-MS : *High-Resolution-Mass Spectrometry*. Spectrométrie de masse à haute résolution

IR : Infra-Rouge

Mt : Métallothionéine

NER : Nucleotides Excision Repair

NHC : *N-Heterocyclic Carbene*. Carbène *N*-hétérocyclique

NHEJ : *Non-Homologous End Joining*

NMI : *N*-méthylimidazole

ORTEP : *Oak Ridge Thermal Ellipsoid Program*

Phen : 1,10-Phénanthroline

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

TBTA : Tris-(benzylpropyltriazolylméthyl)amine

TEAA : Acétate de triéthylammonium

THPTA : Tris-(hydroxypropyltriazolylméthyl)amine

INTRODUCTION GENERALE

Les agents génotoxiques sont souvent utilisés en chimiothérapie anticancéreuse. Parmi eux, nous trouvons le cisplatine, considéré comme un agent « alkylant » de l'ADN, qui a été le premier complexe métallique à être utilisé pour le traitement de tumeurs solides. Cependant, son efficacité est parfois limitée en raison de sa toxicité et de l'apparition de chimiorésistances. Pour contourner ces problèmes, la recherche de nouveaux complexes de platine s'est fortement développée. Les travaux présentés dans ce manuscrit, commencés en octobre 2007, s'inscrivent dans ce contexte de recherche, à travers la synthèse, de nouveaux ligands du platine.

Par ailleurs, depuis quelques années, la recherche de nouvelles réactions à la fois simples, efficaces et versatiles, permettant la construction de molécules inédites facilement fonctionnalisables, est devenue un des centres d'intérêt de la communauté des chimistes organiciens. A ce défi fait écho l'apparition du concept de « chimie click » en 2001, définissant une réaction chimique quantitative, régiosélective, compatible avec une grande variété de systèmes réactionnels et simple à mettre en œuvre. Parmi ces réactions, l'une des plus étudiées est la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre(I) menant à l'hétérocycle 1,2,3-triazole. Son utilisation pour obtenir des triazoles fonctionnalisés de façon à construire des chélateurs, a permis de développer de nouveaux ligands pouvant jouer le rôle de « pince à métal ».

Compte tenu des travaux déjà réalisés au laboratoire qui ont permis de valider la préparation de complexes de platine comportant des ligands triazole et d'en évaluer la cytotoxicité, l'objectif initial du projet est de construire de nouveaux ligands (mono-, bis-triazole) afin d'élargir notre collection de complexes puis de tester leurs réactivités vis-à-vis de l'ADN.

En parallèle à cette étude, nous nous sommes intéressés au développement de métallocarbènes de cuivre(I), ceci afin d'évaluer à la fois leur potentiel comme catalyseurs de cycloadditions 1,3-dipolaires et leurs activités biologiques.

Nous nous proposons donc d'explorer la synthèse des ligands 1,2,3-triazole et de leurs complexes de platine associés, en présentant les différentes stratégies retenues pour diversifier les familles de complexes. Le présent manuscrit se divise en 5 parties qui détaillent les différents aspects des travaux réalisés.

Le premier chapitre est une étude bibliographique présentant les contextes de l'étude. Il sera fait un rappel sur l'interaction des métaux avec l'ADN, à travers les complexes de platine en

tant qu'agents alkylants, mais aussi à travers les complexes de cuivre capables d'induire une coupure oxydative de l'ADN. Nous aborderons également le concept de la « chimie click », ses développements et ses applications.

Le deuxième chapitre concerne le développement et les stratégies de synthèse des ligands 1,2,3-triazole chélateurs du platine. Il permettra de poser les bases de nos travaux : les étapes de synthèse et de caractérisation des différents ligands seront décrites et discutées.

Le troisième chapitre présente la préparation des complexes de platine avec les ligands obtenus précédemment. Un rappel sur la préparation des complexes de platine synthétisés précédemment au laboratoire sera fait, avant de présenter les synthèses des nouveaux complexes mono- et binucléaires.

Le quatrième chapitre porte sur la réactivité des complexes de platine avec des nucléosides et l'ADN sous différentes formes : plasmides surenroulés et structure ADN *hairpin* (« épingle à cheveux »). Cette étude permettra d'approfondir nos connaissances sur la réactivité de ces nouveaux complexes.

Le cinquième chapitre présente les différents travaux menés par l'équipe sur les complexes cuivre(I)-NHC connus pour catalyser la réaction de CuAAC. Ils feront l'objet d'une étude d'optimisation en catalyse. Par ailleurs, l'activité biologique de certains d'entre eux sera évaluée sur différents cellules tumorales humaine.

En conclusion nous reviendrons sur les points clés de ce travail et les difficultés rencontrées puis, nous évoquerons les perspectives à cette étude.

Chapitre I : Etude Bibliographique

I.1. Introduction :

Les éléments métalliques sont essentiels à la vie. La plupart d'entre eux perd facilement des électrons pour former des ions solubles dans les fluides biologiques. Ces cations peuvent alors interagir avec des molécules biologiques riches en doublets libres d'électrons comme les protéines et l'ADN. L'évolution a fait en sorte que les métaux soient incorporés dans des enzymes et des protéines qui jouent des rôles essentiels dans le bon fonctionnement des cellules. Par exemple, l'hémoglobine comporte un ion de fer(II) dont le rôle est de fixer le dioxygène puis d'assurer son transport dans le sang. De la même manière le cuivre, le zinc, le fer et le manganèse sont présents dans de nombreuses protéines avec un rôle structural ou catalytique.

Il est intéressant de noter que la médecine utilise des métaux depuis plus de 5000 ans.¹ Dans le passé, entre 3000 et 1500 ans av. J.-C, les égyptiens utilisaient déjà le cuivre pour stériliser l'eau et le zinc pour améliorer la cicatrisation des blessures. L'or, quant à lui, a trouvé de nombreuses utilisations dans la médecine traditionnelle chinoise.¹

L'essor de la chimie inorganique médicinale est récent, une cinquantaine d'années, ce qui correspond à la découverte de l'activité anticancéreuse du cisplatine, considéré comme le chef de file des métallo-drogues. Bien entendu, d'autres métaux ont été étudiés de par leur potentiel en thérapie et pour leur utilisation en diagnostic (Figure1).

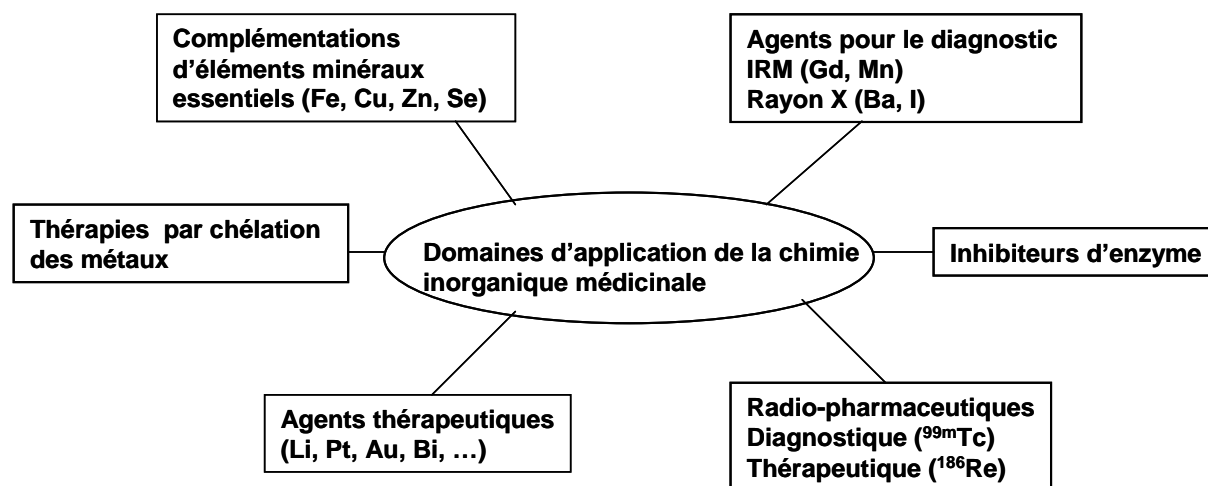


Figure 1. Domaines d'application de la chimie inorganique médicinale.²

De nombreux complexes métalliques ont été envisagés comme nouveaux agents thérapeutiques, notamment dans le domaine des anticancéreux. Le tableau 1 ci-dessous présente quelques exemples de complexes biologiquement actifs ainsi que leurs activités associées.^{3, 4}

Eléments	Composés	Activités biologiques
Ag	Suphadiazine d'argent(I)	Antibactérien
As	Salvarsan, Melarsen, Tryparsamide	Antimicrobien
Au	Thiolates de Au(I) Auranofine Complexes Au(I) diphosphine	Antitumorale Anti-arthrosique Antiviraux
Co	Hexacarbonyle dicobalt	Antiproliférative
Cu	Complexe cuivre(II)- histidine	Maladie de Menkes
Fe	Nitroprussiate de sodium Fe(III) desferrioxamine ferrocifène	Vasodilatateur Antimicrobien Antitumorale
Ga	8-quinolate de Gallium (KP46) Maltolate de Gallium	Antitumorale Antitumorale
Li	Li ₂ CO ₃	Agent neurologique
Pt	Cisplatine, carboplatine	Antitumorale
Ru	Complexes de ruthénium(III)	Antitumorale
Ti	Dichlorure de titanocène, bisdicétoneTi(IV)	Antitumorale

Tableau 1. Exemple de composés métalliques à activités biologiques.

L'émergence au fil des années de complexes métalliques actifs laisse à penser que le développement de nouveaux composés anticancéreux est encore possible. L'intérêt de ces nouveaux complexes réside dans le fait que l'on peut ajuster le degré d'oxydation du métal et sa coordination avec ses ligands (nombre de coordination, géométrie du complexe). Bien sûr, le choix du ou des ligand(s) est tout aussi important, car il est utile à la fois pour contrôler la réactivité du métal et aussi pour favoriser les interactions avec les cibles biologiques (ADN, protéines, enzymes et récepteurs).

Une grande partie des complexes métalliques cytotoxiques ont pour cible l'ADN qui est le garant de l'intégrité du génome. Les interactions métal-ADN dans les systèmes vivants et leurs utilisations potentielles pour le traitement ou le diagnostic de maladies présentent un grand intérêt. La coordination de ces complexes offre différents modes d'interactions avec les oligonucléotides, comprenant les liaisons non covalentes (liaisons ioniques, liaisons hydrogène, forces de van der Waals) ; les liaisons covalentes avec les bases nucléiques, mais aussi les coupures oxydatives des brins d'ADN. Par exemple, les métaux de transition comme

le platine et le ruthénium se fixent sur les atomes d'azote riches en électrons, notamment ceux des positions N-7 des guanines. Le titane, qui est oxophile, montre une capacité à se fixer sur les nucléotides et /ou sur les phosphates. L'accessibilité en milieu physiologique d'au moins deux états d'oxydation pour les ions de fer, cuivre, cobalt, ruthénium et manganèse permet l'activation de réactions d'oxydoréduction pouvant aboutir à la coupure oxydative des brins d'ADN.

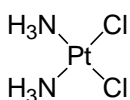
Les métaux mis en avant dans cette thèse sont le platine, pour ses propriétés alkylantes des bases nucléiques, et le cuivre, de par ses propriétés de coupure des brins d'ADN. La recherche et le développement de complexes de platine sont présentés dans la section I.2., les complexes de cuivre sont introduits dans la section I.3.

La conception de nouveaux ligands pour former des complexes avec des propriétés optimales reste fondamentale. L'un des challenges est de trouver des stratégies de synthèse qui permettent d'obtenir une large gamme de ligands fonctionnalisés tout en facilitant leur préparation. Depuis quelques années, l'émergence de réactions simples regroupées sous le terme de « chimie click », permet d'obtenir rapidement des collections de molécules. L'une de ces réactions est la cycloaddition 1,3-dipolaire d'un azoture avec un alcyne vraie catalysée par le cuivre(I) (CuAAC) pour former l'hétérocycle à cinq chaînons 1,2,3-triazole. Les triazoles fonctionnalisés par un groupe donneur deviennent chélatants (« pinces à métaux »). Le concept de chimie click ainsi que les développements des techniques de synthèse et des applications seront présentés dans la section I.4.

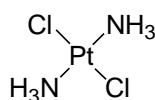
I.2. Complexes de platine : « alkylation » de l'ADN

I.2.1 Cisplatine, historique.

Le *cis*-diamminedichloroplatine(II) ou cisplatine, également nommé sel de Peyrone a été décrit pour la première fois dans la littérature en 1845.⁵ Sa structure a été ensuite déduite par Alfred Werner en 1893. L'activité anticancéreuse du cisplatine a été découverte fortuitement par Rosenberg dans les années 1960.



Cisplatine



Transplatine

Son équipe, qui étudiait l'effet d'un courant électrique sur le métabolisme des bactéries, a mis en évidence le fait que l'électrolyse d'une solution de chlorure d'ammonium par une électrode de platine avait un effet retardant sur la croissance et la division des bactéries d'*Escherichia coli*. Les études qui ont suivi ont clairement identifié le cisplatine comme étant responsable de l'effet antiprolifératif, alors que le transplatine demeure inactif.⁶

Des études ont été menées par la suite, pour tester différents complexes de platine sur des modèles tumoraux implantés chez le rat. Elles ont montré que le cisplatine était le plus efficace pour réduire la taille des tumeurs.⁷ Rapidement après, des tests cliniques en phase I ont suivi sur des tumeurs solides chez l'homme.

Pour l'utilisation clinique du cisplatine, la mise au point d'une synthèse efficace était nécessaire. Celle-ci a été réalisée par Dhara en 1970.⁸ Elle consiste à utiliser le tétraiodoplatinate(II) de potassium et non plus son analogue chloré. Le fort effet *trans* des iodures dirige alors l'addition de deux molécules d'ammoniaque exclusivement en *cis* alors que l'on observe un mélange d'isomères *cis* et *trans* en utilisant les chlorures. Le cisplatine est finalement obtenu par échange des iodures avec des chlorures via le complexe aqua (Schéma 1.)

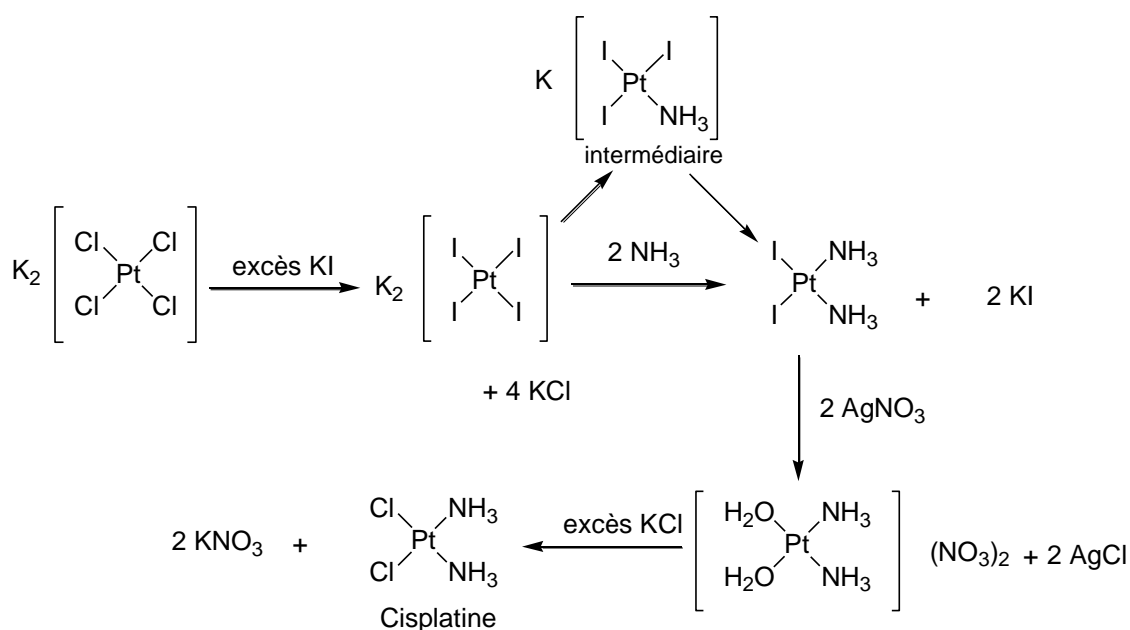


Schéma 1 . Synthèse du cisplatine décrite par Dhara en 1970.⁸

I.2.2 Cisplatine, chimiothérapie.

Le cisplatine, commercialisé sous le nom de platinol[®], est autorisé pour le traitement des cancers depuis 1978. Il est actuellement utilisé en chimiothérapie des cancers des testicules, des ovaires, et se révèle efficace pour de nombreux autres (col de l'utérus, tête et cou, œsophage, poumon).⁹ Le cisplatine a une solubilité aqueuse limitée (environ 1mg/ mL) ce qui est un problème pour son administration par voie intraveineuse.

Le cisplatine peut être utilisé conjointement avec d'autres molécules antitumorales comme le 5-fluorouracile¹⁰ et l'arabinofurannosylcytosine.¹¹ Ces drogues réduisent la réparation des lésions ADN-cisplatine, augmentant par conséquent l'activité du cisplatine. Dans le cas d'une combinaison du 5-fluorouracile avec le cisplatine, le traitement est efficace pour le cancer du colon, connu pour être insensible à l'action du cisplatine seul.

Les doses administrées aux patients sont limitées du fait de nombreux effets secondaires comme des toxicités néphrologiques, neurologiques, otologiques et nausées.¹² Les problèmes néphrologiques ont été atténués grâce à l'hydratation intraveineuse et la diurèse en cours de traitement.

Cependant, il a été montré que certains types de cancer ne répondaient pas au traitement et que d'autres développaient au cours du temps une résistance. Ces problèmes de chimiorésistance seront présentés dans le paragraphe I.2.4.

I.2.3 Cisplatine, mode d'action et réactivité.

Le mode d'action du cisplatine n'est toujours pas parfaitement compris, mais il semble dépendre entre autres de sa capacité à former des adduits non réparables avec l'ADN.

Le cisplatine diffuse dans les tissus avant d'être éliminé par le rein. Dans le sang, la concentration élevée en chlorure (100 mM environ) inhibe l'aquation du complexe, ce qui permet au cisplatine de rester sous forme neutre et inactive durant son transport à travers le corps. Néanmoins, des données montrent qu'il peut se fixer aux cystéines et aux méthionines des albumines durant son transport.¹³

Les premières études suggéraient qu'il puisse pénétrer dans la cellule par diffusion passive mais, très récemment, cette hypothèse a été infirmée puisqu'il a été montré que son entrée est liée au transport et au métabolisme du cuivre.¹⁴ Lorsque le cisplatine rentre dans la cellule où la concentration en ions chlorures est moindre (2 à 30 mM), il se produit une hydrolyse

menant successivement aux complexes mono et bis-aqua ($[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]^+$ et $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$) (Figure 3). Ces deux complexes sont alors beaucoup plus réactifs et sensibles aux nucléophiles cellulaires.

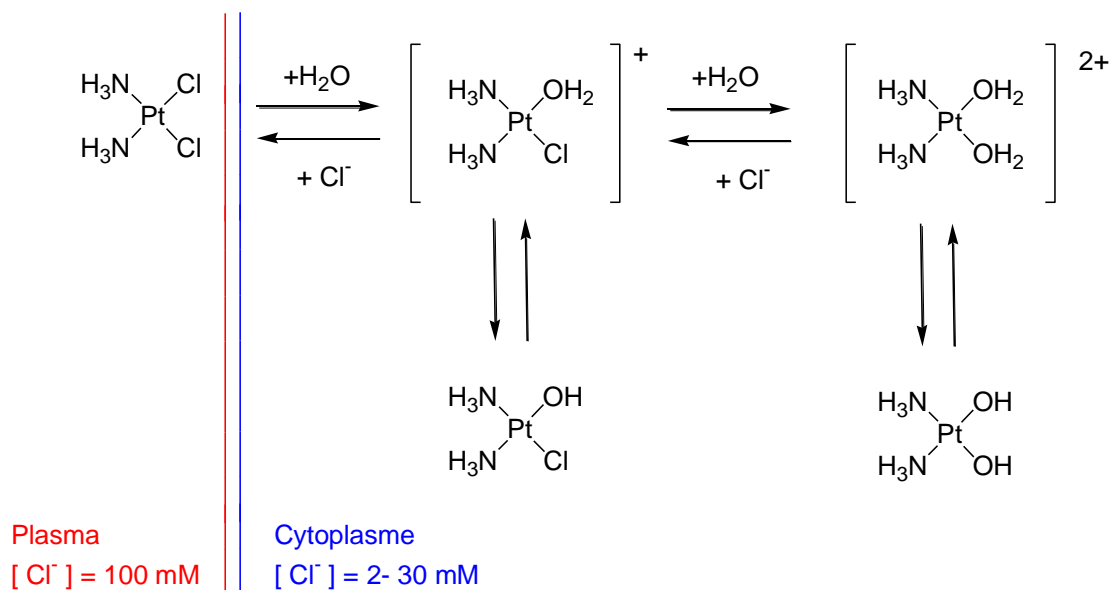


Figure 2. Equilibres impliquant le cisplatine en milieu aqueux et en présence de chlorures.¹⁵

La réactivité de ces espèces a pour conséquence qu'une grande diversité de composés au sein de la cellule peuvent être ciblés (phospholipides¹⁶, protéines, peptides : glutathion, ARN, ADN, etc.). Des expériences ont confirmé que la fixation du cisplatine sur l'ADN génomique était responsable de l'activité anticancéreuse.^{9,10} D'autres résultats ont montré que l'ADN mitochondrial peut être également endommagé.⁹ Le cisplatine est connu pour induire un arrêt du cycle cellulaire en phase G2, pouvant mener à un phénomène d'apoptose.

Ce processus conduisant à la mort cellulaire est assez efficace puisque seul 1 % du cisplatine intracellulaire se fixe à l'ADN¹⁷, le reste se liant aux protéines cytoplasmiques et aux molécules comportant des fonctions soufrées comme le glutathion, présent à des concentrations intracellulaires de 0,5 à 10 mM.¹⁸ Souvent, la fixation du cisplatine sur le glutathion est associée à une résistance au traitement (cf I.2.4). D'autre part, il a aussi été suggéré que le complexe cisplatine-glutathion pouvait jouer le rôle de réservoir à drogue en modulant la cinétique de platination de l'ADN.¹⁹

Toutes les bases de l'ADN présentent des sites potentiels de fixation de l'atome de platine (Figure 3). En condition physiologiques l'atome d'azote N-7 des bases purines (guanine, adénine) semble être préféré.²⁰

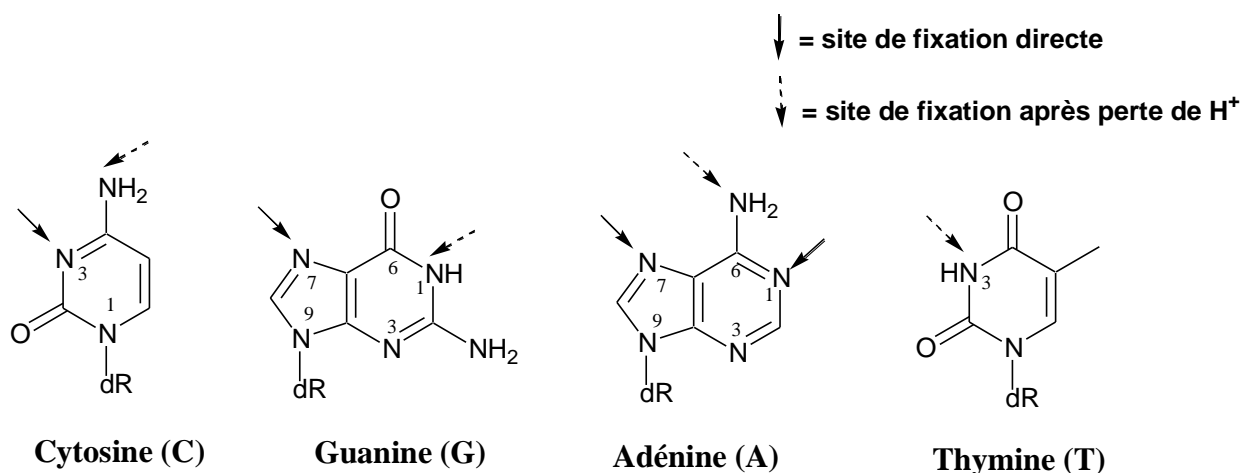


Figure 3. Les sites de fixation potentiels du cisplatine sur les bases nucléiques de l'ADN.²¹

Au niveau de la double hélice d'ADN, différents types d'adduits sont susceptibles de se former. Initialement le mono-adduit est formé, puis il évolue vers des bis-adduits produisant des pontages intrabrin et / ou interbrins responsables du blocage de la réplication et la transcription (Figure 4). Les adduits majoritaires sont les intrabrin-1,2 d(GpG) (60-65%) et d(ApG) (20-25%).^{9,18} Les adduits minoritaires sont les intrabrin-1,3 d(GpNpG), les interbrins et les adduits ADN-protéine.

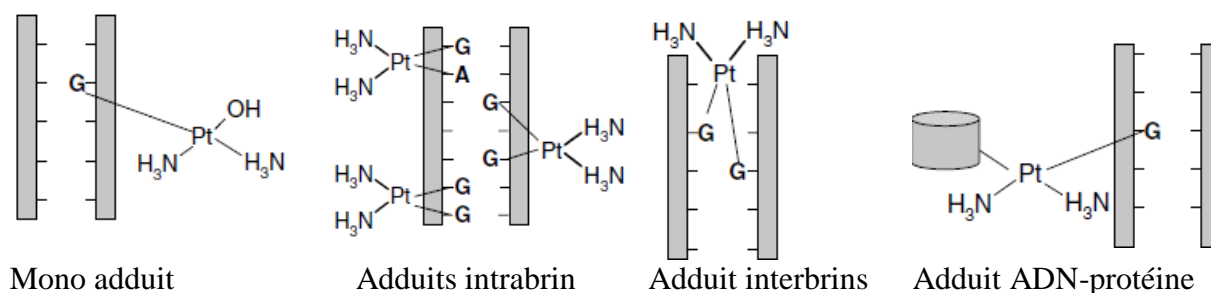


Figure 4. Natures des adduits du cis platine-ADN.

La formation majoritaire de l'adduit intrabrin-1,2 d(GpG) s'explique par la géométrie du complexe de platine. En effet, il a été montré que le transplatine, pour des raisons stériques, n'est pas capable de former ce type d'adduit. Par contre, ce complexe forme préférentiellement des adduits intrabrin-1,3 et interbrins. L'observation de l'activité supérieure du cisplatine par rapport au transplatine s'explique par une faible activité de réparation des adduits intrabrin-1,2 par le système de réparation de l'ADN (NER).²²

Si l'adduit de platine n'est pas réparé, des mutations peuvent avoir lieu au cours des réplifications successives. Par exemple, les adduits GG et AG conduisent à des mutations de

type transversion G>T et A>T. Lorsque les brins mutés sont transcrits, cela mène à la production de protéines défectueuses, à un grand désordre cellulaire, et, finalement, à l'apoptose.²³

Les adduits provoquent des torsions (Figure 5) ou des déroulements de la double hélice, ce qui peut avoir des conséquences lors de la transcription.

Des études par RMN 2D et par modélisation moléculaire ont permis de mesurer les angles de torsion en présence d'adduits intrabrin-1,2 et -1,3. Dans le premier cas, on observe une courbure de l'ADN de 40 à 70° vers le grand sillon et dans le second une courbure de 27 à 33° vers le grand sillon. Pour un adduit interbrins, l'angle de torsion est de 20 à 40° vers le petit sillon.²⁴



Figure 5. Représentation de la structure résolue par RMN de l'oligonucléotide d(CCTGGTCC).d(GGACCAGG) comportant l'adduit intrabrin-1,2 d(GpG).²⁴



Figure 6. Structure du domaine A de la protéine HMG1 liée à l'adduit intrabrin-1,2 d(GpG) formé par le cisplatine.²⁵

La torsion de l'hélice joue un rôle majeur dans la reconnaissance de la lésion par les systèmes enzymatiques impliqués dans la réparation de l'ADN. Cependant, les protéines à boîte HMG (High Mobility Group) peuvent bloquer la réparation. En effet, elles possèdent un domaine reconnaissant spécifiquement la torsion de l'hélice au niveau des adduit intrabrin-1,2.⁹ Le résidu phénylalanine (en jaune, Figure 6) de la protéine HMG s'intercale entre les bases de l'ADN, le complexe formé empêche ainsi toute autre reconnaissance de cette lésion par les systèmes de réparation.²⁶

I.2.4 Cisplatine, phénomènes de résistance

L'un des problèmes majeurs de l'utilisation du cisplatine comme agent anticancéreux réside dans la résistance de certaines lignées vis-à-vis de cette drogue. Cette résistance est intrinsèque (exemple du cancer du colon) ou peut être acquise suite à des administrations répétées de cisplatine au cours du traitement (exemple du cancer des ovaires). Trois types de phénomènes ont été identifiés comme modulant la résistance : les changements de l'accumulation intracellulaire de la drogue (influx et efflux), l'augmentation de la production intracellulaire de molécules comportant des thiols et l'augmentation de la capacité de la cellule à réparer les adduits cisplatine-ADN.

Jusqu'à récemment, le cisplatine était présumé pénétrer dans la cellule de manière passive, car les premières études montraient que sa biodisponibilité n'était ni saturable, ni inhibée par des analogues structuraux.²⁷ D'autres tests avec des petites molécules qui inhibent les pompes Na^+/K^+ ont été réalisés, ces dernières bloquent l'import de cisplatine dans la cellule. Ces observations vont dans le sens d'un transport du cisplatine dépendant du potentiel membranaire.

De plus, l'utilisation d'agents n'altérant pas la perméabilité des membranes, mais modifiant la fonction des protéines (benzaldéhyde et autres aldéhydes), affecte la disponibilité du cisplatine.²⁸ Cette observation suggère que le transport de la drogue est assuré par des protéines de transport membranaires.

Des travaux récents ont montré que le transport du cisplatine est lié à celui du cuivre(II). Il a été mis en évidence que les transporteurs CTR1 responsables de l'import de cuivre dans les cellules pouvaient aussi réguler le transport du cisplatine dans certains modèles.^{14,12}

Par ailleurs, deux autres transporteurs du cuivre semblent aussi impliqués dans les mécanismes de résistance ; il s'agit des transporteurs ATP7A et ATP7B responsables de l'export de l'excès de cuivre (Figure 7).²⁹ Dans certains modèles la surexpression de ces transporteurs peut être corrélée avec les phénomènes de résistance.

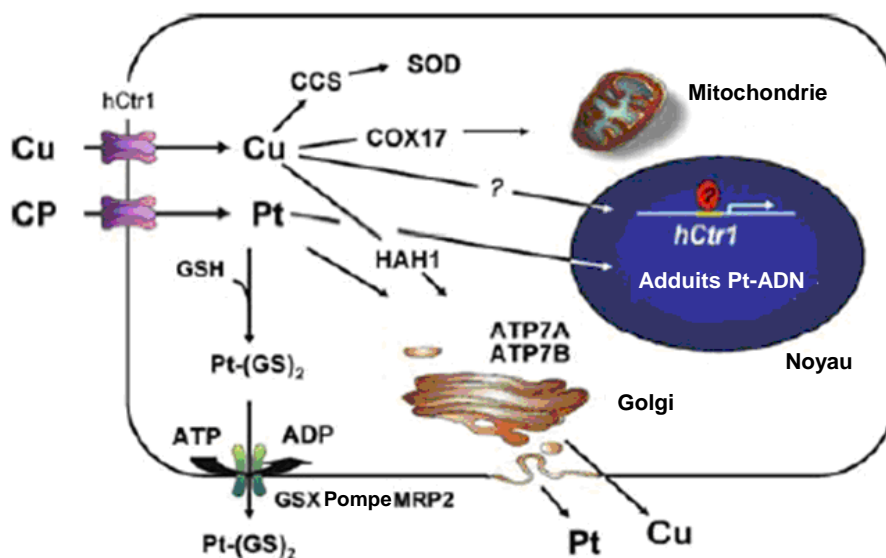


Figure 7. Schéma représentant les similarités pour le transport du cuivre et du platine dans la cellule.³⁰

Il est souvent observé que les cellules résistantes présentent un taux élevé en glutathion. Celui-ci est capable de se fixer spontanément, ou grâce à l'action de la glutathion *S*-transférase sur l'atome de platine. Le platine(II) selon la théorie HSAB (*Hard and soft Acids and Bases*) est un métal mou et a donc une grande affinité pour les molécules soufrées.³¹ Ce phénomène de fixation est important puisque 60 % du cisplatine intracellulaire est inhibé par la complexation avec le glutathion.

Les études ont permis d'identifier des complexes cisplatine-glutathion formés dans le milieu intracellulaire (Figure 8).³²

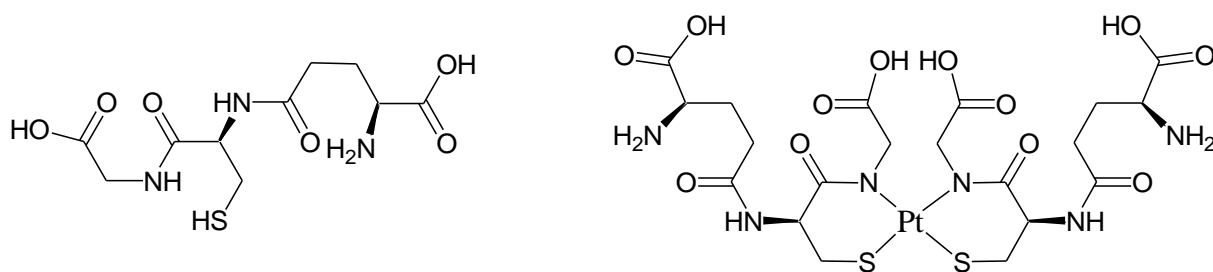


Figure 8. Structure du glutathion et exemple d'un complexe platine- glutathion.³¹

Les complexes Pt-glutathion sont excrétés hors de la cellule par le système de pompes exportatrices de conjugués soufrés ATP-dépendantes (MRP2 ; Figure 7) qui sont surexprimées chez certaines lignées tumorales résistantes.³³

La corrélation entre le taux de glutathion et la cytotoxicité du cisplatine est à nuancer selon le type de cancer considéré. Des études montrent cependant qu'il existe une corrélation entre

l'expression de l'enzyme glutathion-*S*-transférase et la résistance au cisplatine, notamment dans les cas de cancer du colon, des ovaires et de la tête.¹²

Une autre protéine de faible poids moléculaire, la métallothionéine (Mt), riche en cystéines, est présente de manière élevée dans les cellules résistantes au cisplatine. Il a été rapporté que dans le cas des cancers tête et cou, le cisplatine induisait une surexpression de la Mt, alors que cela n'est pas observé dans le cas du cancer des testicules.¹²

D'autres mécanismes sont impliqués dans les phénomènes de résistance, notamment les systèmes de réparation de l'ADN. Deux systèmes sont souvent mis en avant pour expliquer les phénomènes de résistance. Tout d'abord, le système enzymatique du NER (Nucleoside Excision Repair), qui est capable de reconnaître et de réparer les pontages intra- et interbrins. En l'absence de ce système, les cellules deviennent hypersensibles à l'action du cisplatine. Ce complexe multiprotéique ATP-dépendant est capable de reconnaître la torsion de l'hélice induite par des adduits intrabrin-1,2. Après cette reconnaissance, il assure la coupure d'un fragment de 27 à 29 paires de bases contenant la lésion. Pour régénérer le double brin, l'ADN polymérase synthétise le fragment complémentaire (Figure 9). La réparation des adduits intrabrin peut être bloquée par la fixation de protéines de type HMG (high-mobility group).

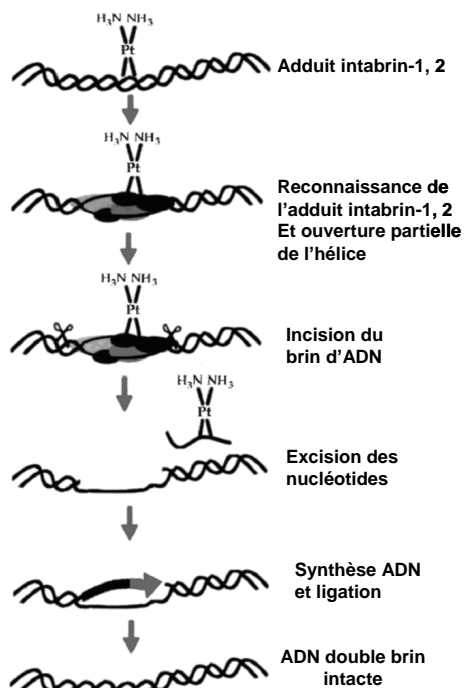


Figure 9. Schéma illustrant les étapes pour la réparation de l'ADN par le système du NER.²²

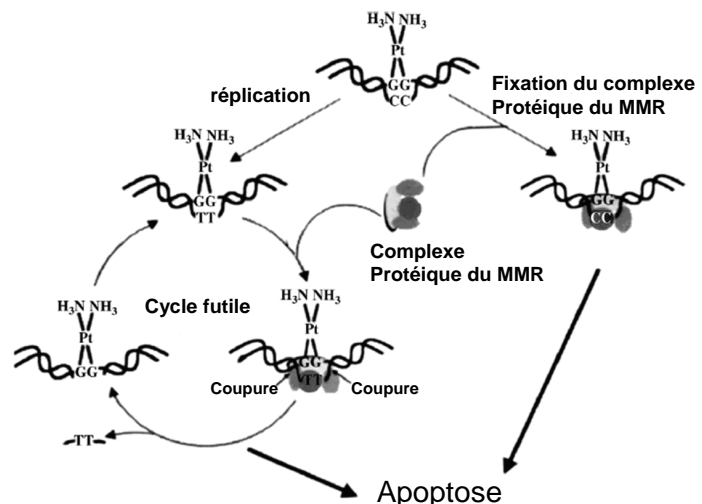


Figure 10. Schéma illustrant la prise en charge d'un mésappariement, induit par l'adduit intrabrin-1,2 d(GpG) formé par le cisplatine, par le système du MMR.²²

Le second système de réparation capable d'affecter la cytotoxicité du cisplatine est le MMR (MisMatch Repair), qui est un système enzymatique post-réplication. Comme dans le cas du NER, les cellules déficientes en complexes protéiques sont beaucoup plus sensibles à la drogue. La fonction du MMR est de « scanner » les nouveaux brins d'ADN formés et d'exciser les nucléotides mal appariés (incorporés par l'ADN polymérase de manière non fidèle) pour de les remplacer par les nucléotides corrects (Figure 10). La présence des adduits du cisplatine mène à des mutations au cours des réplifications successives. La multiplication de ces dernières déclenche un message d'apoptose. Dans le cas où l'adduit cisplatine-ADN est pris en charge par les protéines du MMR, un cycle de correction se met en place permettant ainsi de diminuer le nombre de mutations et donc de ralentir le déclenchement du signal apoptotique.

I.2.5 Cisplatine, analogues utilisés en chimiothérapie

Les désavantages inhérents au cisplatine ont stimulé la recherche de nouveaux complexes de platine ayant une bonne activité tout en étant moins toxiques. Le carboplatine, l'oxaliplatine, et nedaplatine (Figure 12) sont actuellement utilisés en chimiothérapie pour certains cancers où l'utilisation de cisplatine est inefficace.

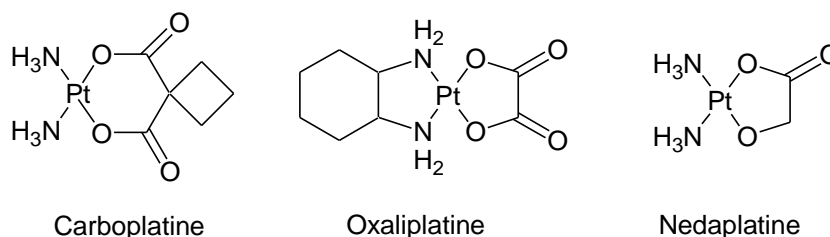


Figure 11. Complexes de platine utilisés en chimiothérapie.

Ces trois complexes antinéoplasiques ont une structure commune constituée d'un atome de platine lié de façon covalente à quatre donneurs. Deux d'entre eux sont azotés (comme pour le cisplatine), les deux autres sont issus d'un ligand bidenté oxygéné, plus labile. En milieu cellulaire, ces composés subissent une hydrolyse pour conduire à des complexes aqua. Cette hydrolyse est plus lente que celle du cisplatine, ce qui explique les différences de temps d'incubation (plus longs) et de concentrations (plus élevées) nécessaires pour obtenir une cytotoxicité similaire à celle du cisplatine.³⁴

Le carboplatine³⁵ est très utilisé en chimiothérapie depuis 1986. Il possède un profil pharmacologique similaire à celui du cisplatine et apparaît comme légèrement moins

cytotoxique. Il est actuellement utilisé en traitement du cancer des ovaires pour les patientes sensibles aux effets secondaires en raison d'une moindre néphrotoxicité et neurotoxicité.

Le nedaplatine³⁶ est autorisé depuis 1995 au Japon. Il possède une bonne activité antitumorale tout en ayant des effets secondaires moindres. Cependant, il présente le même spectre de résistance que le cisplatine, ce qui rend son utilisation limitée.

L'oxaliplatine³⁷ a été sélectionné car il présente une meilleure efficacité et une toxicité plus faible que celle du cisplatine. Il ne présente pas de résistances croisées avec le cisplatine. De plus, il est très efficace pour les cancers colorectaux.

Malgré l'efficacité de ces agents thérapeutiques de deuxième génération, la recherche de nouveaux complexes de platine continue pour améliorer les traitements chimiothérapeutiques.

I.2.6 Nouvelles générations de complexes de platine.

I.2.6.a Les complexes de platine mononucléaires

Une grande partie de ces nouveaux complexes ont été synthétisés dans le but d'obtenir une réactivité différente de celle du cisplatine. Les modifications apportées permettent d'avoir une meilleure affinité pour l'ADN, et dans certains cas, de mieux cibler les cellules tumorales.

L'inconvénient majeur des complexes de platine reste leur grande affinité pour les ligands soufrés. Afin d'empêcher la désactivation du complexe de platine par le glutathion, des complexes comportant des ligands pyridine ont été synthétisés. L'exemple le plus connu est celui du picoplatine (ou ZD0473, Figure 12), pour lequel l'encombrement stérique autour du métal (interactions $\text{CH}_3 - \text{Cl}$ et $\text{CH}_3 - \text{NH}_3$) provoque une rotation de la pyridine autour de l'axe $\text{Pt} - \text{N}$ pour l'amener hors du plan. La fixation du glutathion est alors ralentie car une des deux faces du carré plan est encombrée.³⁸

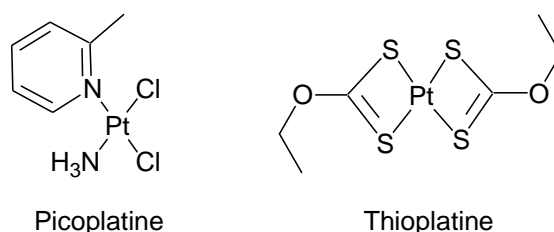


Figure 12. Exemples de complexes de platine mononucléaires

Des travaux ont été menés pour mieux cibler les tumeurs. Le but de ces stratégies est de tirer profit des caractéristiques physiologiques des cellules, notamment le pH intracellulaire. Un pH voisin de 6,8 (ou inférieur) est souvent observé dans les cellules cancéreuses alors que le pH des cellules saines est voisin de 7,2-7,4. En se basant sur cette observation, des complexes dont l'activité est pH-dépendante ont été proposés. Par exemple, dans le cas du complexe bis-(*O*-thiocarbonato)platine(II) (thioplatine), les ligands sont fortement liés au métal à un pH supérieur à 7 ; par contre, à un pH inférieur à 7, on observe une ouverture réversible d'un des ligands soufrés pour former un complexe aqua réagissant alors avec l'ADN.³⁹

D'autres stratégies ont été développées afin d'améliorer la délivrance du complexe actif à travers les tissus tumoraux. Le lipoplatine est une nouvelle formulation du cisplatine sous forme de liposome. Cette encapsulation a été développée afin d'avoir une meilleure délivrance du composé au sein des cellules tout en limitant les effets indésirables. Ce composé est actuellement en phase (III) de tests cliniques en combinaison avec le 5-fluoruracile pour le traitement de cancers tête et cou.⁴⁰

Certaines macromolécules qui normalement ne s'échappent pas du système vasculaire sont capables de s'accumuler dans les tumeurs solides. Ce phénomène, appelé EPR (*Enhanced Permeability and Retention*) apparaît comme un mécanisme par lequel des macromolécules anticancéreuses s'accumulent préférentiellement (par rapport à des analogues de plus bas poids moléculaire) dans les tumeurs. Le copolymère *N*-(2-hydroxypropyl)méthacrylamide (HPMA) lié à un complexe de platine présente une bonne activité antitumorale (Figure 13).⁴¹ L'intérêt de ce polymère est qu'il n'est pas immunogène pour une utilisation chez l'homme. Lorsque le complexe entre dans la cellule, le pont formé par la partie peptidique est susceptible d'être hydrolysé au niveau du lysosome libérant ainsi le complexe platiné dans la cellule.

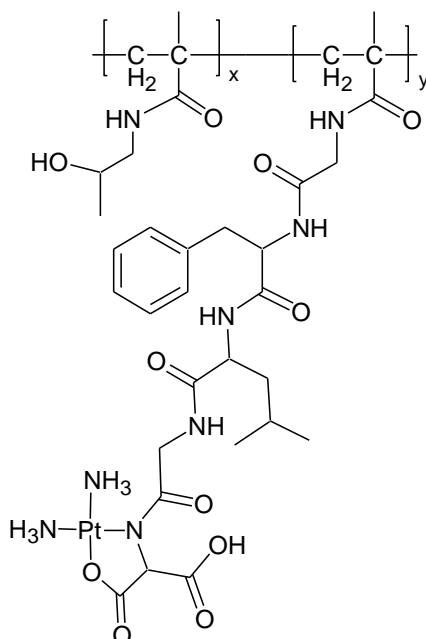


Figure 13. Structure chimique du complexe de platine lié au copolymère HPMA.

L'effet cytotoxique des complexes de platine résulte principalement des interactions avec l'ADN génomique. L'idée est d'augmenter l'affinité vis-à-vis de l'ADN afin de permettre l'augmentation de l'activité anticancéreuse. Selon le ligand choisi, on cherche également à former des adduits avec l'ADN structuralement différents et moins bien reconnus par les systèmes de réparation.

L'utilisation de ligands reconnaissant spécifiquement le petit sillon est souvent mise en avant dans les stratégies ciblant l'ADN. Ces ligands forment des liaisons hydrogène et créent des interactions de type van der Waals avec les bases nucléiques. L'un des ligands, le plus référencé dans le domaine, est la distamycine (DIST). L'étude du complexe Pt-DIST (Figure 14) montre que ce dernier a la même sélectivité de séquence que le cisplatine mais la proportion d'adduits interbrins est augmentée.⁴²

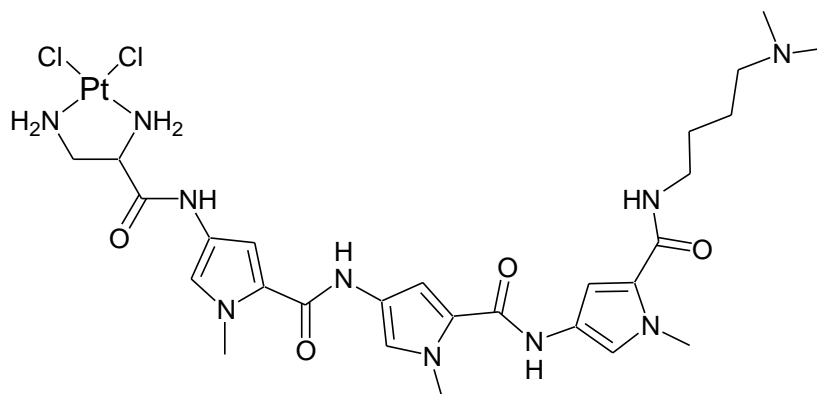


Figure 14. Structure chimique du complexe de platine conjugué à la distamycine, ligand du petit sillon de l'ADN.

L'utilisation d'agents intercalants permet de favoriser également l'interaction du complexe avec l'ADN. Les intercalants sont des molécules polyaromatiques, qui peuvent se placer entre les bases de l'ADN grâce à des interactions de type π -stacking. Deux exemples de molécules comportant les hétérocycles acridine⁴³ et anthraquinone⁴⁴ sont présentés ci-dessous (Figure 15). Ces complexes présentent une bonne activité antitumorale et une plus faible toxicité que le cisplatine. Dans certains cas ils permettent même de contourner les phénomènes de résistance. D'autres complexes binucléaires comportant des intercalants fluorescents ont également été étudiés afin de suivre leur localisation intracellulaire.⁴⁵

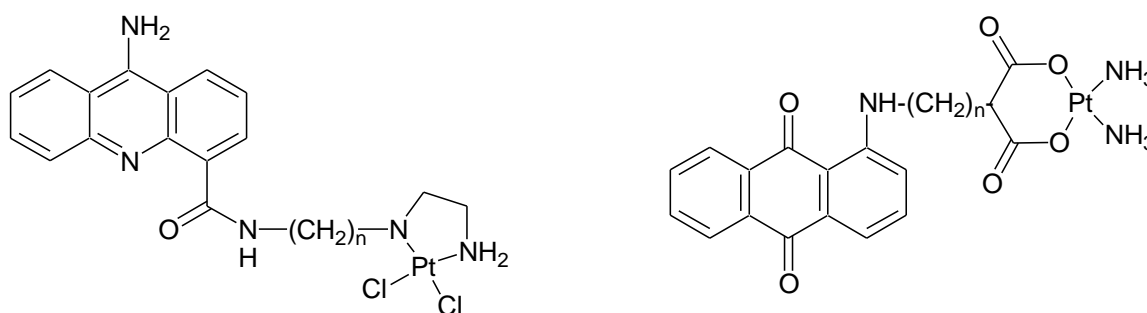


Figure 15. Exemples de complexes de platine conjugués à des agents intercalants de l'ADN.

Parce que le cisplatine montre une activité antitumorale supérieure à celle de son analogue *trans*, il a été admis pendant longtemps que ce type de composé était moins efficace. Or, il a été démontré que toute une série de complexes de géométrie *trans* présentait une meilleure cytotoxicité que leurs analogues *cis*.⁴⁶ C'est le cas, par exemple, du complexe *trans*-Pt(pyridine)₂Cl₂, où l'on observe une bonne activité cytotoxique tout en diminuant la réactivité avec les biomolécules comme le glutathion.⁴⁷ Ce complexe forme plus d'adduits interbrins et présente une meilleure accumulation cellulaire que le cisplatine.

L'utilisation de ligands iminoéther comme dans les cas du *trans*-Pt(iminoéther)⁴⁸ induit des contraintes stériques, qui ralentissent fortement la réaction d'échange des chlorures. Les différentes configurations des complexes (*EE*, *EZ* et *ZZ*) ont été étudiées, le complexe *trans-EE* étant le plus efficace. Ce complexe forme majoritairement des mono-adduits sur des résidus guanine.

Les résultats pour le complexe *trans*-[Pt(isopropylamine)(diméthylamine)Cl₂]⁴⁹ montrent une cytotoxicité comparable à celle du cisplatine pour les cellules sensibles à ce dernier. De plus ce complexe forme plus d'adduits interbrins.

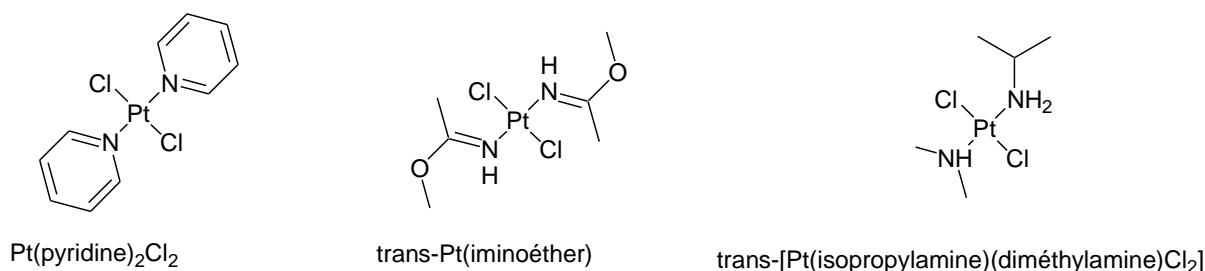


Figure 16. Exemples de complexes platinés de configuration *trans*.

Une approche originale a été menée par l'équipe de Marinetti avec l'utilisation de carbènes *N*-hétérocycliques (NHC) comme ligand de l'atome de platine. Si les complexes NHC sont souvent utilisés en catalyse organométallique, des études biologique portant sur les complexes d'argent, d'or, de palladium, de ruthénium et de rhodium ont été récemment menées dans les domaines antimicrobiens et anticancéreux. Les complexes de formule générale (NHC)PtI₂(amine) dont les configurations sont *trans* semblent avoir le même mécanisme d'action que les dérivés *trans* du cisplatine.⁵⁰

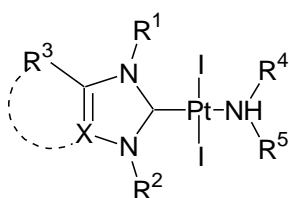
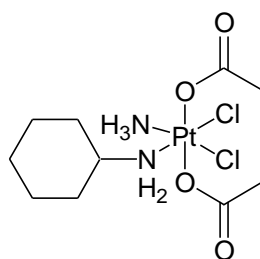


Figure 17. Structure générale des complexes (NHC)PtI₂(amine).

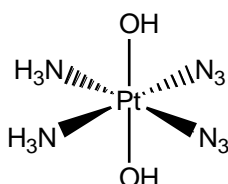
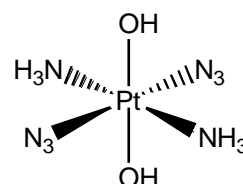
Les complexes de platine(II) sont souvent présentés comme des molécules très réactives et peu stables dans les milieux biologiques. L'utilisation de complexes de platine(IV) apparaît donc comme une approche complémentaire intéressante. En effet, ils ont une meilleure stabilité et sont activés après une bioréduction en platine(II) ; ces propriétés permettant de rendre disponible jusqu'à la cible une plus grande proportion de molécules intactes. Le satraplatine⁵¹ (Figure 18) est un exemple de complexe de platine(IV) hexacoordiné qui présente un large spectre d'applications tout en étant moins toxique que le cisplatine. Il est actuellement en phase III d'essais cliniques. Cette nouvelle molécule est développée actuellement pour une possible administration par voie orale. Lorsque le platine(IV) rentre dans la cellule, il est réduit en platine(II), probablement par l'action de l'acide ascorbique ou du glutathion. Il perd ses deux fonctions acétate et acquiert une géométrie plane, similaire à celle du cisplatine.



Satraplatine

Figure 18. Structure du Satraplatine, complexe de platine(IV) administrable par voie orale.

Une autre approche pour les complexes de platine(IV) est l'utilisation de complexes « prodrogue » pouvant être activés par irradiation ultra-violette. Cette approche a été développée pour cibler l'action du traitement aux seules cellules cancéreuses. Sadler a étudié l'activité du complexe *cis,trans,cis*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂] et celle de son isomère *trans,trans,trans*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂] en présence et en absence d'ultra-violets.⁵² Dans le cas du premier complexe, il a été observé que l'adduit d(GG) était formé rapidement par photo-activation. Durant les tests aucune résistance commune avec celle du cisplatine n'a été mise en évidence. Néanmoins, l'utilisation de ce nouveau type de complexes reste limitée aux seuls cancers accessibles à un rayonnement ultra-violet.

*cis, trans, cis*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂]*cis, trans, trans*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂]**Figure 19. Complexes de platine(IV) photoactivables.**

1.2.6.b Les complexes de platine polynucléaires

Les complexes polynucléaires comportant 2 ou 3 atomes de platine et dont la géométrie des centres métalliques est de configuration *cis* et/ou *trans* sont largement étudiés. Ils présentent la caractéristique de former de nouveaux types d'adduits platine-ADN moins facilement reconnaissables par les systèmes de réparation. En effet, ils favorisent les pontages interbrins qui peuvent se faire parfois à longue distance. Certains de ces complexes polynucléaires offrent de nouveaux modes de liaisons originaux tels que des liaisons non covalentes.

Les premiers exemples de complexes polynucléaires permettant de relier deux atomes de platine (cisplatine⁵³, carboplatine⁵⁴, transplatine⁵⁵) comportent une chaîne aliphatique avec deux fonctions amine coordonnant les métaux (Figure 20).

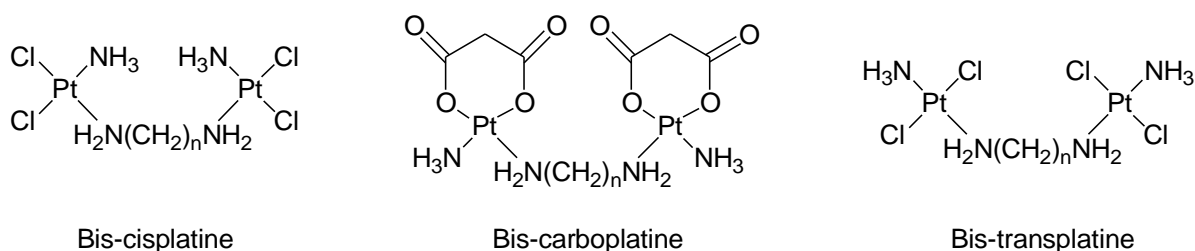


Figure 20. Complexes bimétalliques de platine avec pont aliphatique.

Basés sur la même idée, des complexes de platine cationiques de configuration *cis* et *trans* ont été synthétisés (Figure 21).⁵⁶ Les charges positives portées par le complexe permettent une meilleure solubilisation en milieu physiologique et une meilleure affinité avec l'ADN chargé négativement. Les atomes de platine forment des mono-adduits (un seul chlore labile par platine) pouvant mener à des pontages à longues distances. D'autres exemples de complexes bimétalliques ont été étudiés, ils consistent à remplacer un des NH₃ par une picoline ou des pyridines pour obtenir des composés moins toxiques.⁵⁷

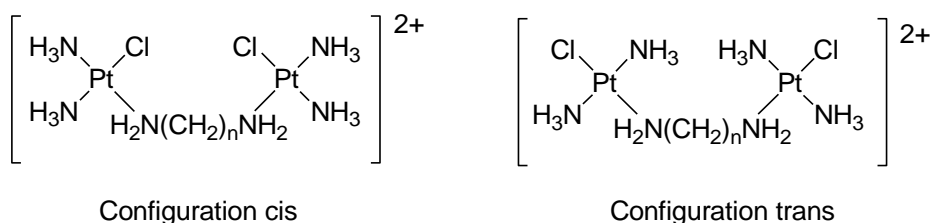


Figure 21. Complexes cationiques binucléaires de platine avec pont aliphatique.

Des travaux ont été menés par la suite pour modifier les ponts aliphatiques en intégrant des polyamines naturelles (spermine, spermidine ; Figure 22).⁵⁸ L'intérêt de ces complexes est de pouvoir créer des liaisons hydrogène avec l'ADN et de favoriser une pré-association au niveau des sites de fixations. De plus, ces liaisons hydrogène aident à la stabilisation des adduits à longues distances.

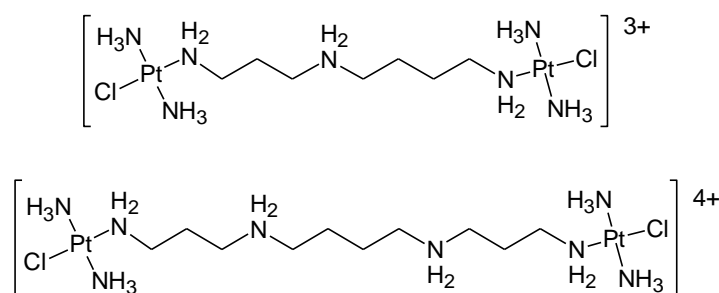


Figure 22. Complexes cationiques binucléaires de platine possédant un pont dérivé d'une polyamine naturelle (spermine, en bas ou spermidine, en haut).

L'introduction d'un troisième atome de platine au centre de l'espaceur a permis d'avoir une activité cytotoxique prometteuse, conduisant au développement du complexe BBR3464 pour des tests cliniques (Figure 23).⁵⁹ Ce complexe est constitué d'atomes de platine monofonctionnels à chaque extrémité et au centre, d'un atome de platine tétracoordonné à quatre amines. Ces dernières peuvent interagir avec l'ADN par l'entremise de liaisons hydrogène.

Le profil cytotoxique de ce complexe est très différent de celui du cisplatine, puisqu'il est très actif sur les cellules tumorales résistantes à ce dernier. Ce complexe forme des adduits interbrins-1,4 et 1,5 qui ne sont pas reconnus par les protéines HMG.²¹

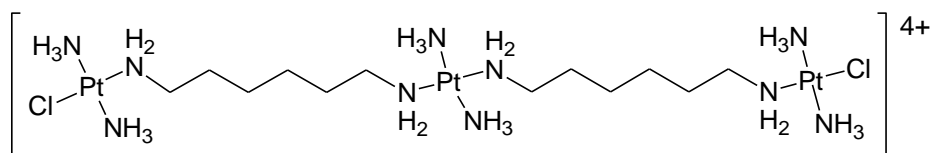


Figure 23. Complexe trinuéculaire de platine BBR3464.

Un autre complexe trinuécléaire a permis de mettre en évidence une interaction avec les fonctions phosphodiester de l'ADN. Le complexe Triplatine NC présente trois centres de platine saturés par des amines, ce qui ne permet pas de former des adduits avec les bases nucléiques.⁶⁰ Le mode d'action de ce complexe possédant 8 charges positives passe par l'établissement de liaisons hydrogène avec les atomes d'oxygène des fonctions phosphates (chargées négativement).

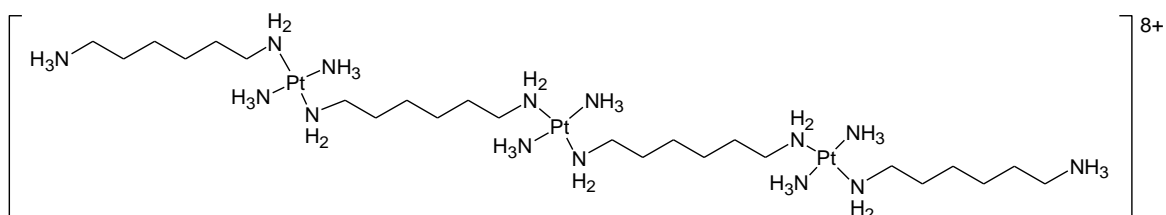


Figure 24. Complexe trinuéculaire de platine Triplatine NC.

Reedijk et collaborateurs ont synthétisé des complexes binucléaires possédant des ponts rigides de type pyrazolate ou 1,2,3-triazolate (Figure 25).⁶¹ Ces complexes aux designs originaux possédant des ponts courts permettent de former des adduits intrabrin-1,2 en minimisant les torsions de la double hélice. Cette approche permettrait une faible reconnaissance de l'adduit par le système de réparation et donc une meilleure cytotoxicité.

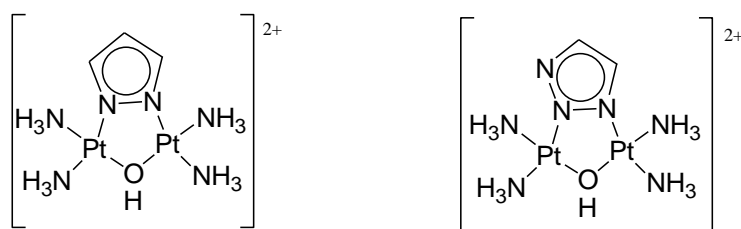


Figure 25. Complexes binucléaires de platine comportant des ligands pyrazolate et 1,2,3-triazolate.

Le mode d'action de ces complexes diffère fortement de ceux ayant comme ligands des chlorures. En effet, la fixation d'une guanine sur un des atomes de platine provoque le départ d'un ligand hydroxo (Schéma 2). Par la suite, une seconde guanine substitue ce groupement pour donner l'adduit binucléaire final.

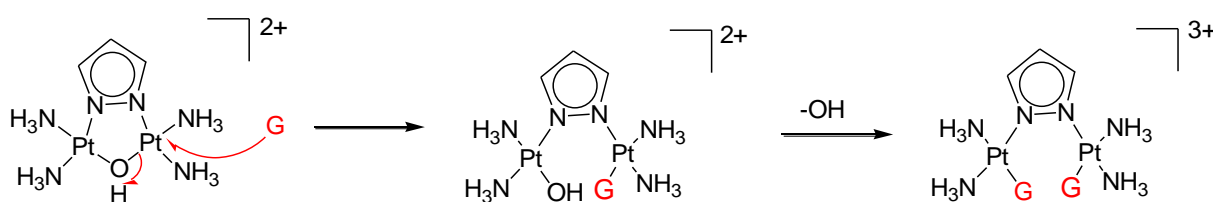


Schéma 2. Mécanisme de la substitution du ligand hydroxo par les guanines sur le complexe biplatine-pyrazolate.

Une étape supplémentaire est observée dans le cas des composés de type 1,2,3-triazole. Après la fixation de la première guanine, une migration de l'atome de platine de la position N-2 vers la position N-3 du triazole est observée avant l'arrivée de la deuxième guanine (Schéma 3).

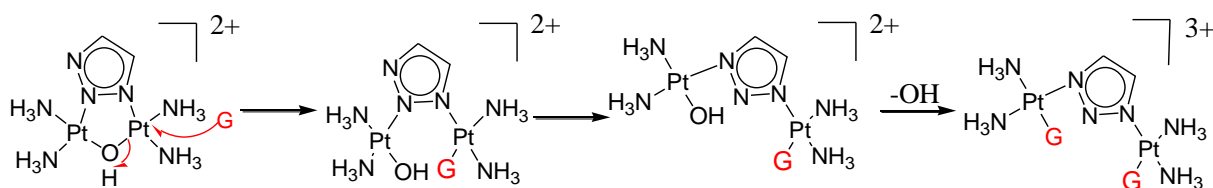


Schéma 3. Mécanisme de la substitution du ligand l'hydroxo par les guanines sur le complexe biplatine-1,2,3-triazolate.

Dans ce cas, l'adduit formé avec l'ADN permet d'accéder à une plus grande distance interplatine⁶² et à une flexibilité propice à la formation d'adduits intrabrin-1,2 tout en ne provoquant que des distorsions minimales de l'ADN bicaténaire.

Une autre classe de complexes dinucléaires a été synthétisée par l'équipe de Broomhead. Le pontage entre les deux atomes de cisplatine est assuré par le ligand 4,4'-dipyrazolyméthane (Figure 26). Dans un premier temps, ce sont les complexes doublement pontés⁶³ qui ont été développés, puis par la suite, des complexes monopontés⁶⁴ rappelant ceux de Farrell. D'une manière générale, ces complexes neutres présentent une bonne activité antitumorale, mais leur faible solubilité aqueuse présente un réel inconvénient pour l'étude de cette drogue lors d'essais cliniques.

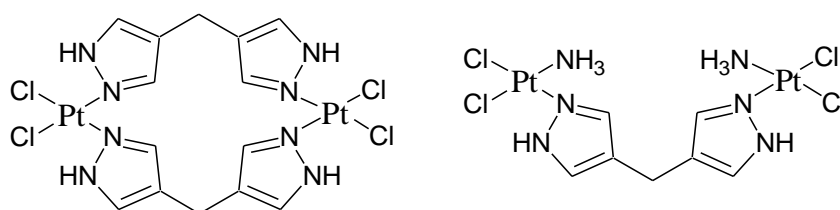
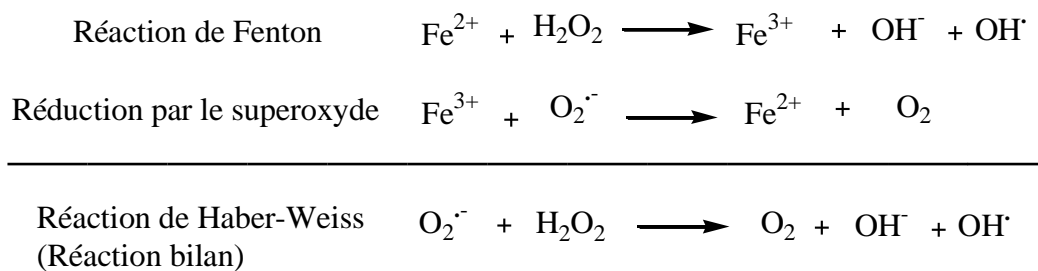


Figure 26. Complexes binucléaires de platine comportant le ligand 4,4'-dipyrazolyméthane.

I.3. Complexes de cuivre : coupure oxydative de l'ADN

I.3.1 Coupure oxydative (généralité)

Les dommages oxydatifs de l'ADN, qui sont des événements relativement courant au sein de la cellule, peuvent mener à des mutations, des cancers ou à la mort cellulaire.⁶⁵ Ces lésions peuvent être causées par des radiations ionisantes⁶⁶, la photo-oxydation⁶⁷, la formation de peroxyde d'hydrogène *via* l'intervention de métaux de transition⁶⁸ et d'autres espèces réactives de l'oxygène comme le radical hydroxyle *via* les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss.



Pour préserver l'intégrité du génome, les organismes possèdent différents mécanismes de défense : la délétion et la réparation du brin lésé, l'arrêt du cycle cellulaire pour stopper la transmission du génome endommagé ou incomplet et l'entrée en apoptose afin d'éliminer les cellules endommagées.

Différents mécanismes ont été identifiés pour la réparation de ces lésions⁶⁹ :

- la réparation par excision de base (BER),
- la réparation par excision de nucléotide (NER),
- la réparation des coupures double brin (NHEJ)
- la réparation des pontages interbrins (HR)

Il existe trois grandes voies pour induire des coupures simple ou double brin de l'ADN : l'oxydation des bases nucléiques⁷⁰, l'hydrolyse des groupements phosphate⁷¹, l'oxydation du désoxyribose.⁷²

L'oxydation des bases nucléiques n'induit que très rarement une coupure directe de l'ADN. Une deuxième étape est nécessaire pour aboutir à la coupure du double brin, comme une température élevée, l'absence d'une base (site abasique) ou le traitement par une enzyme (exemple glycosylase).⁷³

L'hydrolyse de la liaison phosphodiester est un mécanisme naturel, utilisé par certaines enzymes une coupure du brin. Il est également utilisé par certains composés synthétiques.⁷⁴

L'oxydation du désoxyribose peut mener directement à des coupures : cela commence par l'abstraction d'un atome d'hydrogène du sucre suivi par un réarrangement pour mener à l'élimination de la base et à la rupture des liaisons phosphodiester reliant les nucléosides.

C'est la bléomycine qui a été la première molécule identifiée comme étant capable de couper l'ADN par l'oxydation de l'unité monosaccharidique. Elle est utilisée cliniquement contre les lymphomes, les cancers tête et cou. Cette molécule est formée de trois domaines (Figure 27) :

- Le domaine 1, constitué par une pyrimidine, une β -amino-alanine et un hydroxyimidazole, joue le rôle de chélateur du métal ajustant le potentiel rédox, et est donc responsable de l'activité de ce dernier (Figure 27, sites de liaisons avec le métal).
- Le domaine 2, constitué par la partie bithiazole et la chaîne chargée positivement, permet la fixation à l'ADN et la reconnaissance de séquences spécifiques.
- Le domaine 3, constitué par l'unité disaccharidique, serait responsable de l'accumulation du complexe métal-bléomycine dans les cellules cancéreuses.

La bléomycine possède donc la capacité à chélater des ions métalliques comme le fer et le cuivre qu'elle recrute en milieu physiologique. Les complexes métal-bléomycine peuvent être activés en présence de dioxygène et d'un réducteur pour fournir des radicaux oxygénés.

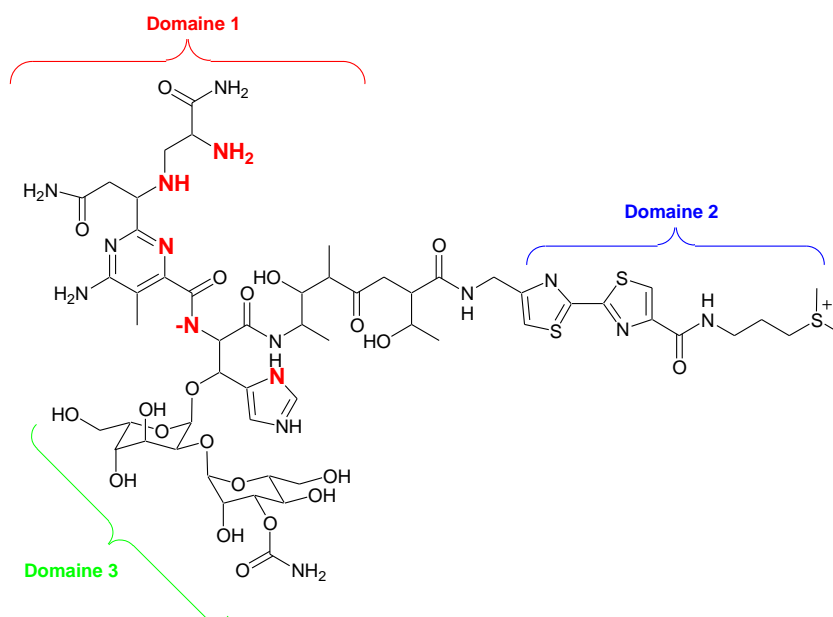


Figure 27. Structure de la bléomycine (forme déprotonnée) et de son site de liaisons aux métaux (en rouge).⁷⁵

Depuis la découverte de la bléomycine, une grande variété de complexes a été synthétisée pour mimer son activité. Les deux complexes les plus étudiés pour la coupure oxydative de la

partie désoxyribose sont le $[\text{Fe}^{\text{II/III}}(\text{EDTA})]^{76}$ (EDTA : EthylèneDiamineTetraAcétate) et le $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{77}$ (Phen : 1,10-Phénanthroline)(Figure 28).

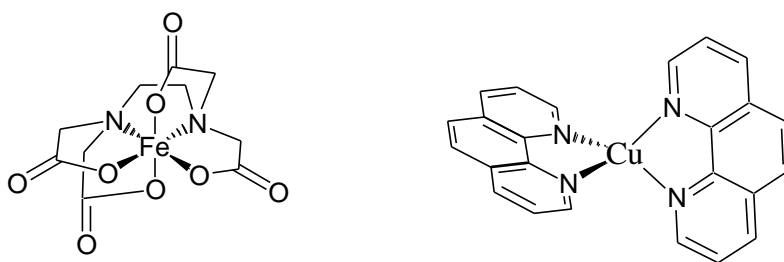


Figure 28. Structures des complexes $[\text{Fe}^{\text{II/III}}(\text{EDTA})]^{2-/2+}$ et $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$.

La réaction du $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{EDTA}]^{2-}$ en présence de peroxyde d'hydrogène est bien connue. Elle est utilisée comme outil lors d'analyses structurales de l'ADN et de *footprinting* des complexes protéine-ADN ou des complexes molécule-ADN.⁷⁸

Le complexe $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$ présente une bonne activité biologique et lui aussi a été utilisé comme agent de coupure lors de tests de *footprinting*. Malheureusement, la faible constante d'association K_2 du deuxième ligand phénanthroline, ainsi que le manque de sélectivité de séquence font que son utilisation est restée relativement limitée.

I.3.2 Mécanisme de coupure de l'ADN par le complexe $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$

Le premier exemple rapporté de complexes synthétiques mimant l'activité de nucléases est le complexe $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$.⁷⁹ La réaction de coupure de l'ADN par ce complexe a lieu en présence de H_2O_2 ou d'oxygène moléculaire et d'un agent réducteur. Le complexe ne contenant qu'une seule phénanthroline, est quant à lui moins actif.⁷⁹ Pour favoriser la formation du complexe 1:2 (cuivre : phénanthroline), un large excès de phénanthroline par rapport au cuivre est nécessaire.⁸⁰

La géométrie des complexes cuivre-phénanthroline est dépendante du degré d'oxydation du métal. La géométrie passe d'un tétraèdre pour un cuivre(I) à une bipyramide trigonale ou une pyramide à base carrée pour un cuivre(II).⁸¹

L'établissement d'une interaction du complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$ avec l'ADN est importante pour l'activité de coupure. Il a été montré que le complexe est capable de s'insérer entre les bases de l'ADN au niveau du petit sillon.⁸² Les études de modélisation portant sur l'interaction du complexe avec l'ADN montrent que le ligand 1,10-phénanthroline est

partiellement intercalé au niveau d'un motif ApT, l'autre ligand restant tourné vers l'extérieur (Figure 29).



Figure 29. Modèle de l'intercalation du complexe $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{phen})_2]^{+2+}$ dans le petit sillon de l'ADN.⁸³

Le complexe amène à une coupure relativement sélective des séquences 5'-TAT, même si d'autres séquences comme TGT, TAAT, TAGT, TAGC et CAGT ont été rapportées.⁸⁴ L'activité de coupure dépend aussi de la structure de l'ADN, le complexe est très efficace sur l'ADN-B, moins sur l'ADN-A et quasiment inactif sur l'ADN-Z et l'ADN simple brin. Un effet de proximité avec l'ADN joue donc un rôle clé dans le mécanisme de coupure, ce qui n'est pas étonnant puisque les radicaux oxygénés réactifs ne peuvent diffuser sur de grandes distances avant de réagir.⁸⁴

Des tests ont été menés pour mettre en évidence les espèces responsables de la coupure oxydative. Il a été établi que lorsque le complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$ intercalé réagit avec le peroxyde d'hydrogène ou le dioxygène, il forme une espèce active de type $\text{Cu}(\text{phen})_2\text{-oxo}$ (Figure 30). La nature exacte de cette espèce reste inconnue. Le schéma ci-dessous présente le mécanisme menant aux dommages oxydatifs de l'ADN.

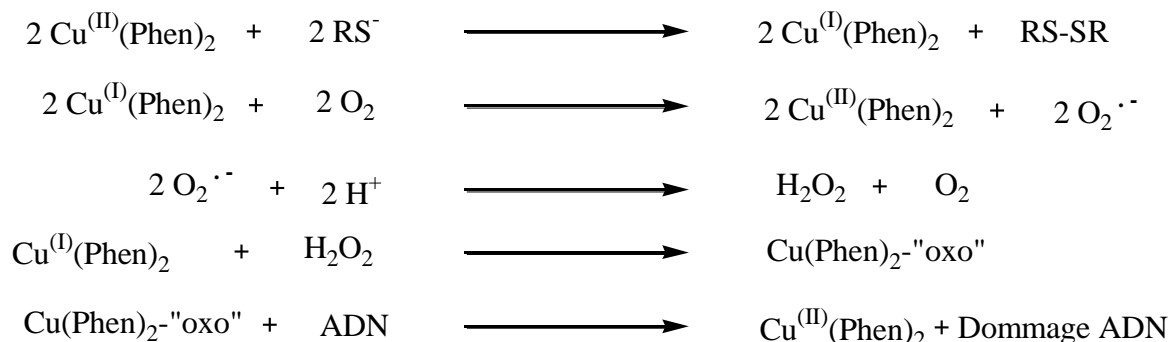


Figure 30. Mécanisme d'oxydoréduction du complexe $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{phen})_2]^{+2+}$ menant à la coupure de l'ADN.⁸⁵

La première étape est la réduction du complexe initial de cuivre (II) en complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$ par des molécules soufrées comme le glutathion. Dans une deuxième étape le dioxygène oxyde le complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$ pour former le $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{phen})_2]^{2+}$ et l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$. La participation de l'ion superoxyde a été mise en évidence par des tests d'inhibition en présence de superoxyde dismutase (SOD).⁸⁶ La formation de peroxyde d'hydrogène n'a pas été totalement prouvée, mais des inhibitions de la coupure ont été mesurées en présence de catalase.⁸⁶ Enfin, la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et le complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$ conduit à l'espèce « oxo » qui va réagir avec l'ADN. Les produits de coupure générés sont typiques d'une attaque par le radical hydroxyle. D'autres tests ont été réalisés en présence de *scavengers* de radicaux hydroxyles, dans ce cas la réaction de coupure n'est pas inhibée.⁸⁷ Ces derniers résultats ont été expliqués en considérant l'encombrement stérique au niveau de la région de l'adduit ADN- $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{2+/+}$ empêchant l'accès aux *scavengers*. La voie d'oxydation faisant appel aux radicaux hydroxyles n'est donc pas totalement à exclure.

Le complexe $\text{Cu}(\text{phen})_2\text{-oxo}$ activé est capable d'arracher les hydrogènes portés par les carbones C1', C4' et C5' du désoxyribose. Les mécanismes d'élimination de ces hydrogènes sont présentés dans la figure 31.

L'oxydation du carbone C1' est mise en évidence par la détection de la 5-méthylène-furanone (5-MF)⁸⁸. La première étape consiste en l'abstraction de l'hydrogène H1' par le complexe $\text{Cu}(\text{phen})_2\text{-oxo}$. Ensuite, le radical est oxydé en carbocation, probablement par le complexe. Après réaction avec l'eau, la base nucléique est éliminée pour générer le site oxydé abasique. Cette désoxyribonolactone est stable, il faut une température élevée ou un traitement alcalin pour aboutir à la coupure du brin d'ADN.⁸⁹ Dans le cas du $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{2+/+}$, le complexe catalyse cette étape.⁹⁰ La coupure du brin d'ADN est réalisée par une première β -élimination qui libère l'extrémité 5'-phosphate. Une seconde β -élimination libère l'extrémité 3'-phosphate et le 5-MF.

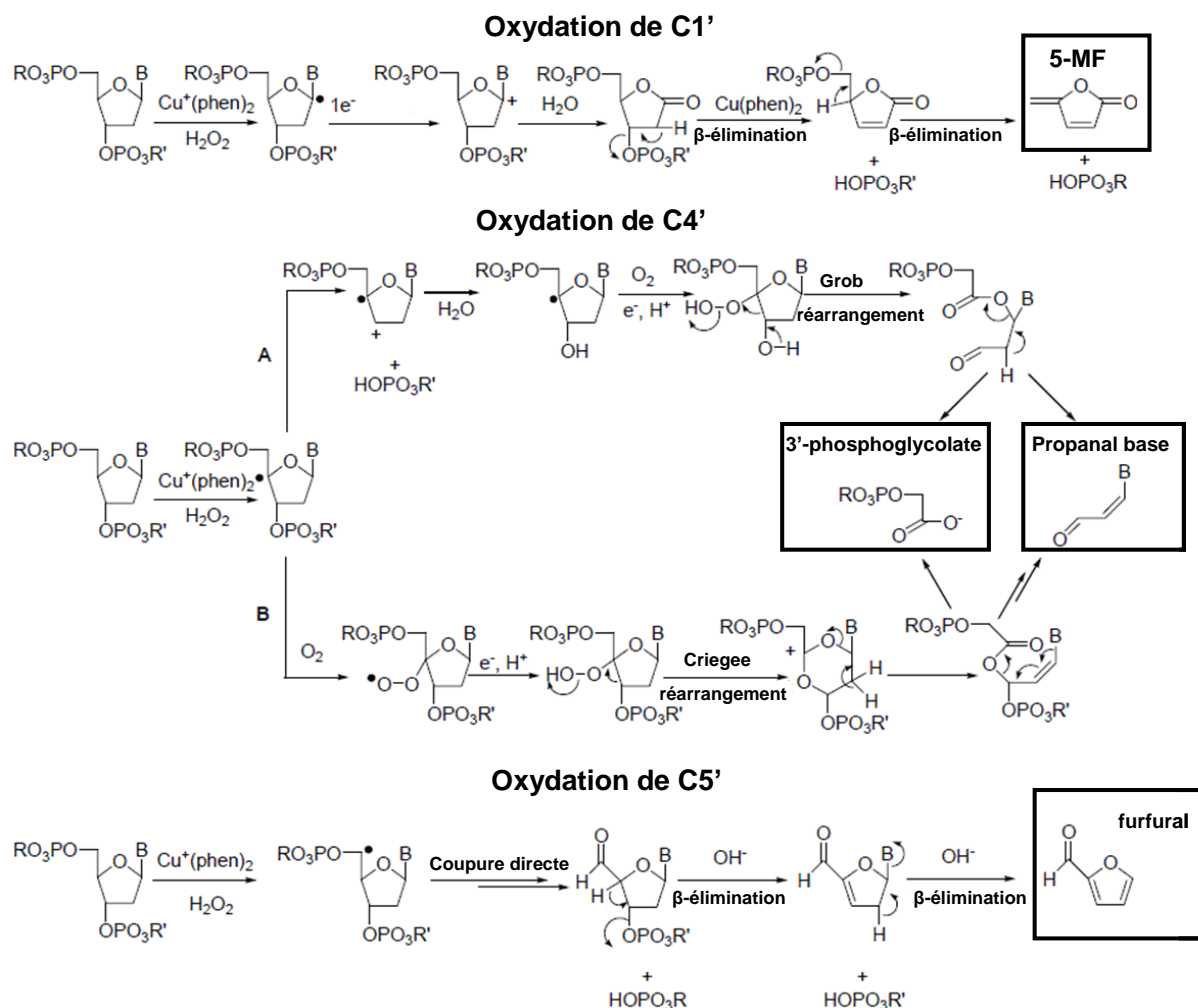


Figure 31. Mécanismes proposés pour l'oxydation des carbones C1', C4' et C5' du désoxyribose. Les produits 5-MF, 3'-phosphoglycolate et furfural ont été isolés et purifiés.⁹¹

L'oxydation du carbone C1'a été identifiée comme étant la voie majoritaire de coupure de l'ADN dans le cas du complexe $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{phen})_2]^+$. Ceci a été démontré en conduisant une hydrolyse en milieu aqueux marqué à l'oxygène 18 (Figure 32). En fin de réaction, l'atome d'oxygène radioactif se trouve incorporé sur le groupe carbonyle de la 5-méthylène-furanone.⁹²

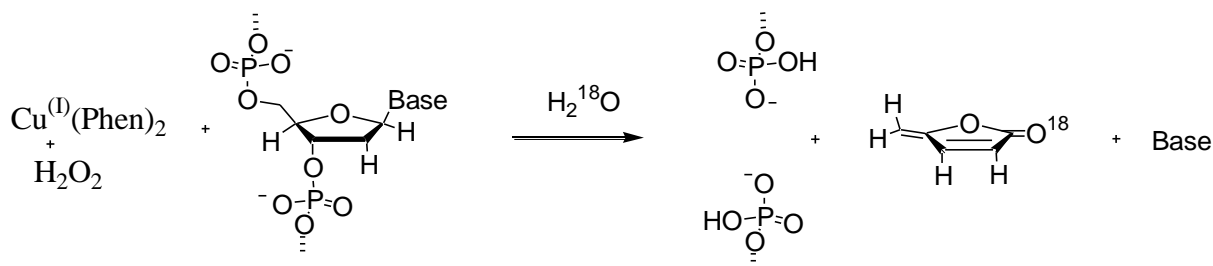


Figure 32. Mise en évidence du mécanisme de coupure de l'ADN par le complexe 1,10-phenanthrolinecuivre(I) en présence de peroxyde d'hydrogène.⁹⁷

Dans le cas de l'oxydation du carbone C4', les fragments typiques de type 3'-phosphoglycolate sont observés. Les deux voies conduisant à l'oxydation de la position C4' sont présentées dans la figure 31 (voie A et B). Ces deux voies ont en commun l'abstraction de l'hydrogène H4' du désoxyribose.

Pour la voie A, une coupure de la liaison C3'-OP pour libérer le fragment 5'-phosphate est proposée. Le radical-cation formé réagit avec une molécule d'eau pour conduire au radical localisé en C4'. Après addition de ce dernier sur le dioxygène et capture d'un proton, un réarrangement de type Grob⁹³ a lieu et une dernière étape de β -élimination permet la libération de l'extrémité 3'-phosphoglycolate.⁹⁴

La voie B est proposée dans le cas du complexe Fe-bléomycine⁹⁵. Le radical positionné en C4' réagit avec le dioxygène pour former un radical peroxyde qui est ensuite transformé en hydroperoxyde. L'étape suivante correspond à un réarrangement de type Criegee⁹⁶. Ce réarrangement est classiquement catalysé par un acide,⁹⁴ mais il a été suggéré que la bléomycine pouvait jouer le rôle d'acide de Lewis.⁹⁷ Dans la dernière étape, la base nucléique est éliminée, le 3'-phosphoglycolate et le propenal sont libérés.

La voie d'oxydation du carbone C5' débute par l'abstraction de l'hydrogène H5'. Ensuite, la coupure de l'extrémité 3'-phosphate conduit à la coupure directe du brin d'ADN. Le chauffage du fragment C5'-aldéhydique dans des conditions alcalines modérées induit une β -élimination qui libère du furfural. Néanmoins, l'oxydation du carbone C5' est une voie minoritaire pour l'induction de la coupure de l'ADN par le complexe $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$.

I.3.3 Exemples de complexes basés sur le système Cu(phen)₂.

Ce paragraphe se veut illustratif des différentes stratégies mises en œuvre pour le design de nouveaux complexes de cuivre mimant l'activité de nucléases et présente l'intérêt de ces nouveaux complexes.

De nombreuses stratégies ont été développées pour améliorer le système $[\text{Cu}^{\text{I/II}}(\text{phen})_2]^{+/2+}$. Elles consistent à remplacer la deuxième phénanthroline par des acides aminés⁹⁸, des ligands multifonctionnels à atomes donneurs N, S, et O⁹⁹, des sulfonamides¹⁰⁰ ou des peptides.¹⁰¹ Dans ce type de systèmes, la partie phénanthroline/cuivre conserve son activité de coupure, le second ligand modifie son interaction avec l'ADN.

L'induction d'une coupure sélective d'une séquence a elle aussi fait l'objet de nombreuses études. Cette stratégie consiste à introduire sur une phénanthroline un composé ciblant une partie de l'ADN. Par exemple, la phénanthroline a été liée à différentes protéines¹⁰² pour déterminer leurs sites de liaisons spécifiques avec l'ADN. Des oligonucléotides ont été attachés pour induire des coupures sélectives de séquence.¹⁰³ Enfin, la phénanthroline a été connectée à des intercalants¹⁰⁴ ou à des ligands du petit sillon¹⁰⁵. Néanmoins, comme ces complexes ne comportent qu'une phénanthroline, leur activité reste faible.¹⁰⁶

Pour pallier ces difficultés, des ponts de type sérinol (clip) en position 2 ou 3 ont été utilisés afin de relier deux 1,10-phénanthrolines et de donner les complexes stables Cu (2-clip-phen) ou Cu (3-clip-phen).¹⁰⁷ Ces deux complexes sont respectivement 2 et 60 fois plus efficaces que leurs analogues non pontés.¹⁰⁸

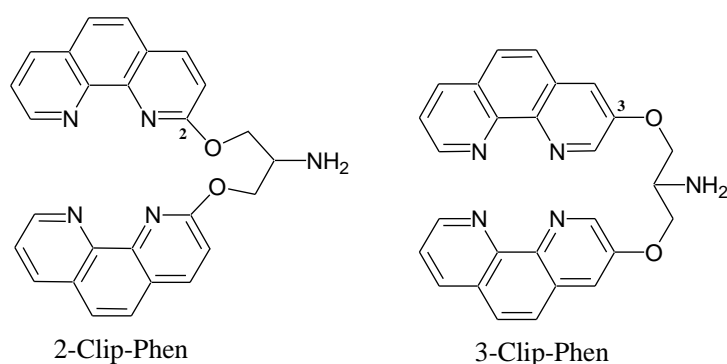


Figure 33. Structure des ligands Clip-Phen.

Afin d'augmenter la sélectivité de séquence médiocre de ces complexes, l'amine du groupement sérinol a été fonctionnalisée avec des ligands spécifiques du petit ou du grand sillon. L'équipe de Pitié a utilisé des analogues de la distamycine¹⁰⁹, ligand du petit sillon, afin d'accroître la sélectivité de coupure au niveau d'une succession de paires de bases A:T. D'autres complexes du même type ont été synthétisés comme le 2-clip-phen conjugué à une polyamine naturelle (la spermine) présentant une grande affinité pour l'ADN.¹¹⁰ Le complexe métallique correspondant possède une bonne activité de coupure mais ne présente aucune spécificité de séquence. Enfin, des complexes Cu(3-clip-phen) ont été fonctionnalisés avec des groupements acridine¹¹¹, qui sont de bons intercalants mais également des molécules pénétrant rapidement dans la cellule.

D'une manière générale, les complexes Cu(3-clip-phen) fonctionnalisés avec des molécules ayant une affinité pour l'ADN ont une meilleure activité de coupure que le complexe de clip-phen non fonctionnalisé.

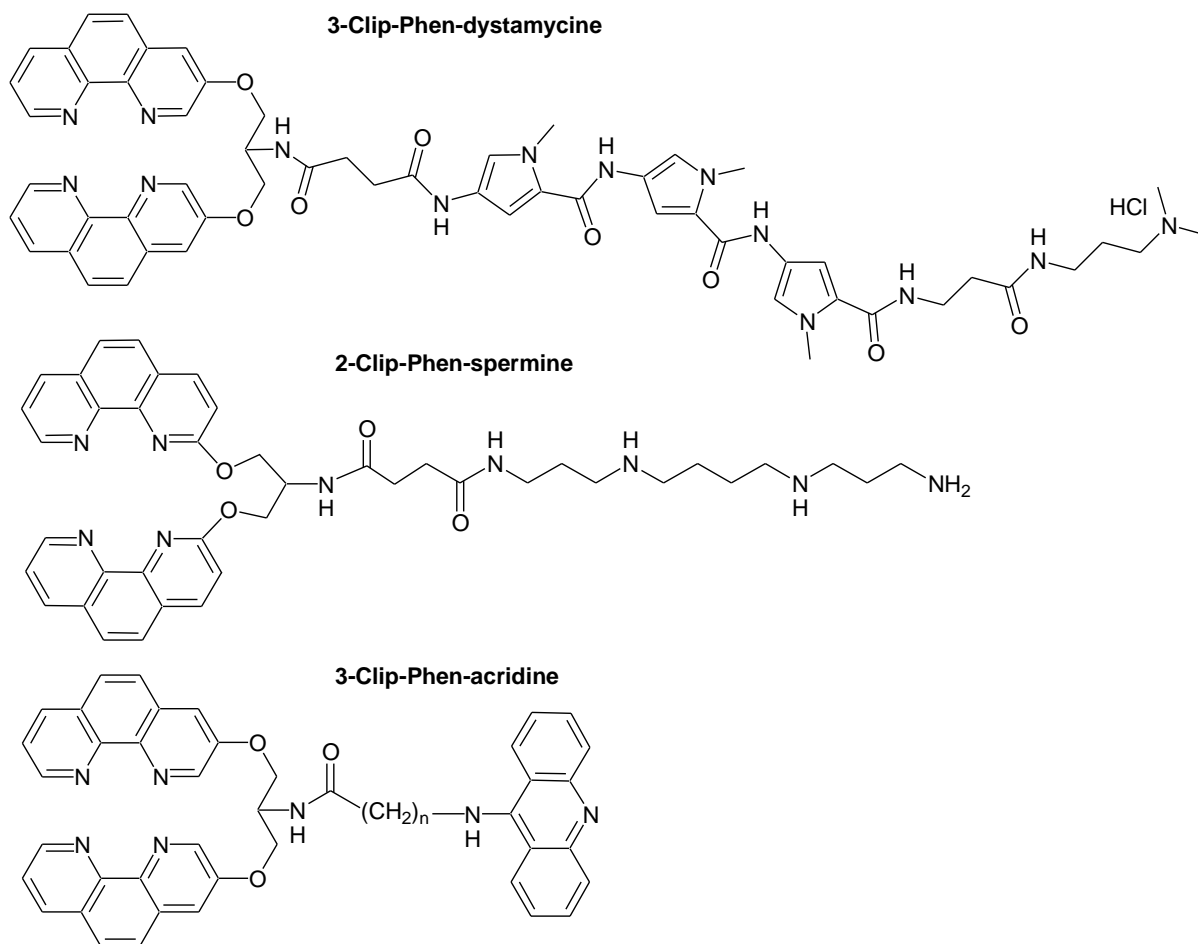


Figure 34. Exemples de structures de ligands clip-phen conjugués.

Des complexes hétérobinucléaires possédant deux fonctions distinctes ont été réalisés avec les ligands 3-clip-phen.¹¹² L'association du complexe Cu(3-clip-phen) avec un complexe de platine (agent alkylant) donne de bons résultats. En effet, il a été remarqué que la coupure induite par ces complexes bimétalliques se trouvait proche des sites d'affinité du cisplatine (dAG, dGG). Le platine jouerait donc un rôle d'ancre, ce qui forcerait le complexe de cuivre à couper l'ADN à proximité des adduits platinés.¹¹³

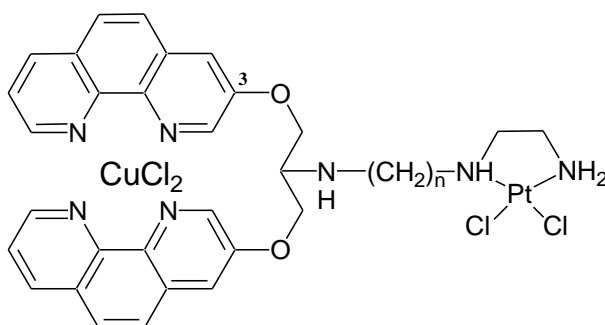


Figure 35. Exemple de structure de complexe hétérobinucléaire Cu(3-clip-phen)-platine.

I.3.4 Autres exemples de complexes de cuivre pouvant provoquer une coupure de l'ADN

Le Cu(II)-hydroxysalen est un exemple parmi les complexes capables d'oxyder l'ADN sans participation d'agent activant.¹¹⁴ Il forme spontanément une espèce oxydée Cu(III). La position des groupes hydroxyles a une influence sur l'activité de coupure. Il a été montré que les isomères *ortho* et *para* génèrent l'espèce cuivre(III) spontanément alors que l'isomère *mé*ta en est incapable. Un exemple plus récent de complexe capable de s'auto activer est le Cu(pyrimol)Cl, issu de la réaction du CuCl₂ avec un ligand Hpyrimol.¹¹⁵

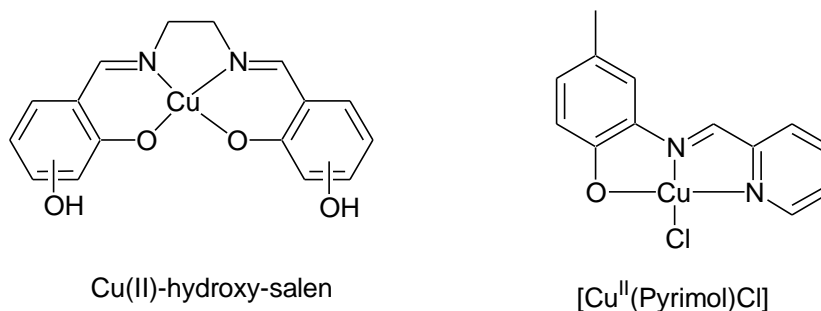


Figure 36. Exemples de complexes de cuivre oxydant l'ADN.

La recherche sur les complexes multi-nucléaires a conduit à s'intéresser à leur capacité à reconnaître des séquences spécifiques. L'équipe de Karlin a mis au point le complexe (Tri)Cu₃, molécule possédant 3 atomes de cuivre coordonnés par des ligands 2,2'-dipyridylamine. Ce complexe trinucéaire reconnaît spécifiquement des jonctions entre simple et double brin.¹¹⁶

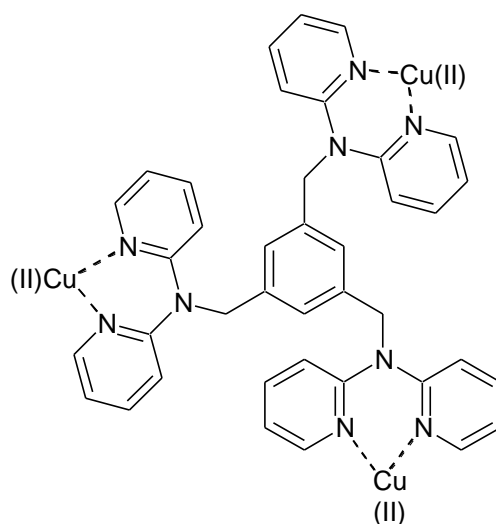


Figure 37. Complexe trinucéaire de cuivre (Tri)Cu₃.

Diverses études de l'activité de coupure de l'ADN, basées sur les complexes cuivre(II) d'aminoglycosides ont été menées. Parmi ces aminoglycosides, citons la néomycine B¹¹⁷, la kanamycine¹¹⁷ et l'apramycine.¹¹⁸ Ces complexes sont capables de couper l'ADN et l'ARN de différentes manières, soit par hydrolyse, soit par oxydation du désoxyribose.

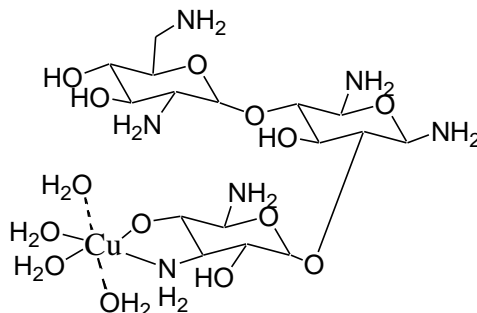


Figure 38. Complexe cuivre-Kanamycine.¹¹⁷

I.4. Chimie click : Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire alcyne-azoture catalysé par le cuivre(I).

I.4.1 Le concept de la chimie click

Le concept de « chimie click » a été introduit en 2001 par Sharpless.¹¹⁹ Il définit un groupe de réactions chimiques quasi parfaites, variées et simples à mettre en œuvre. Les quatre classes de transformations sont les suivantes (Figure 39) :

- Les cycloadditions d'espèces insaturées ; particulièrement les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire Azoture –Alcyne (CuAAC) et de Diels-Alder.
- Les substitutions nucléophiles, particulièrement les réactions d'ouvertures d'hétérocycles contraints comme les époxydes, aziridines, sulfate cycliques, sulfamide cycliques et les ions aziridinium et episulfonium.
- La chimie des carbonyles non enolisables, comme la formation d'urées, de thiourées, d'hétérocycles aromatiques, d'oximes et de leurs éther, d'hydrazones et d'amides.
- Les additions sur des liaisons multiples carbone-carbone, c'est-à-dire les réactions d'oxydation telles que les époxydations, les dihydroxylations, les aziridinations et certaines additions de Michaël.

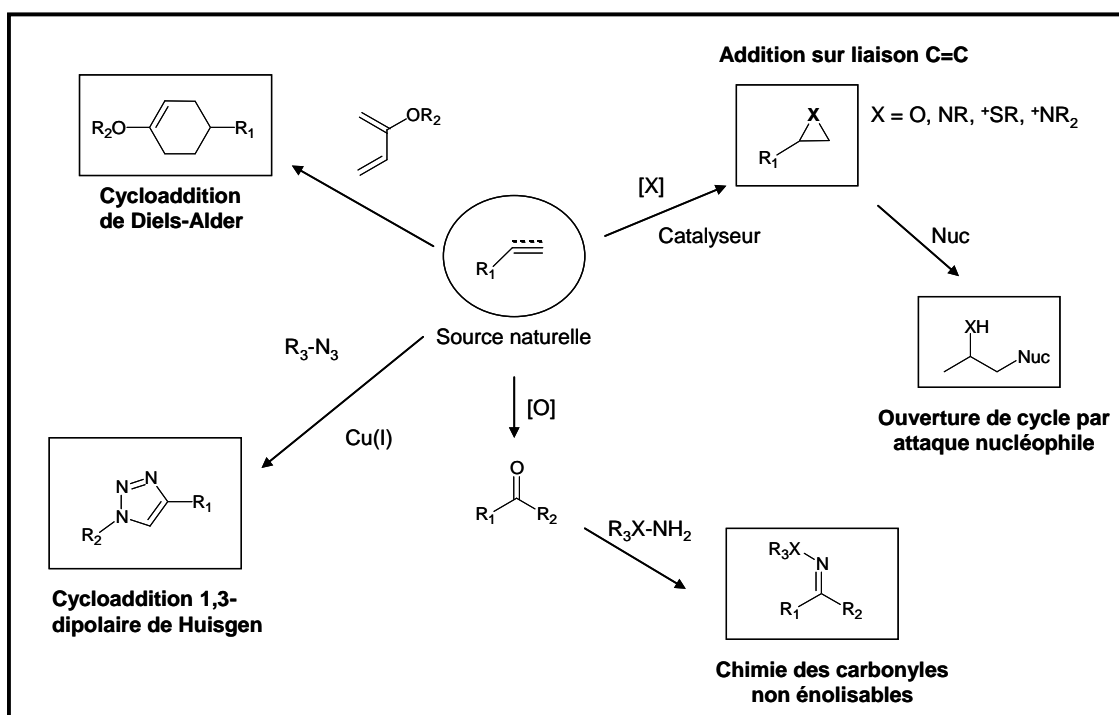


Figure 39. Schéma présentant l'ensemble des réactions de chimie click.

Pour qu'une réaction puisse être considérée comme « click », celle-ci doit répondre à un certain nombre de critères¹²⁰ :

- La réaction doit être modulable et doit s'appliquer à un large spectre de substrats
- La réaction doit être efficace et donner de bons rendements
- Elle ne doit pas fournir de sous-produits, ou seulement des sous-produits inoffensifs et facilement séparables
- Si la molécule possède des stéréocentres, la réaction doit être stéréospécifique
- Le chimiste doit avoir facilement accès au matériel de départ
- Les réactions doivent être menées sans solvant ou avec un solvant bénin
- Les techniques de purification doivent être simples

Depuis ces dernières années, la chimie click est très utilisée à l'interface chimie-biologie, en catalyse et pour fonctionnaliser des matériaux. Parmi toutes les réactions de la chimie click, la cycloaddition CuAAC demeure à ce jour la réaction la plus étudiée.

I.4.2 Cycloadditions de Huisgen

Les cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen regroupent les réactions d'un dipolarophile (alcène, alcyne, carbonyle ou nitrile...) avec un composé 1,3-dipolaire (azoture, oxyde de nitrile, diazo-alcane) qui conduisent à la formation d'un hétérocycle à cinq chaînons.

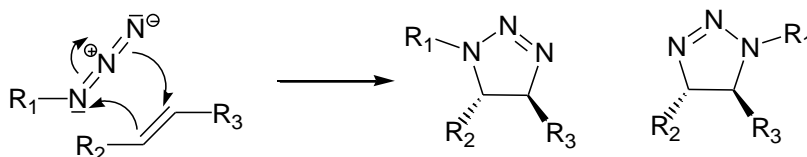


Schéma 4 . Un exemple de réaction de Huisgen.¹²¹

Ces réactions, initialement découvertes par Michael à la fin du 19^{ème} siècle, puis développées par Huisgen à partir de 1963 requièrent des températures élevées et ne sont généralement ni stéréospécifiques, ni régiospécifiques. Par exemple, la cycloaddition [2 + 3] d'un azoture et d'un alcyne vrai produit un mélange de régioisomères 1,4 et 1,5.

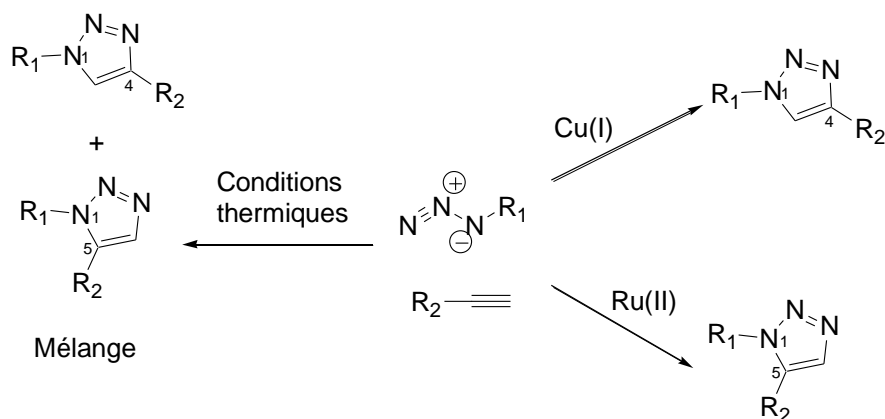


Figure 40. Schéma présentant les produits obtenus par la cycloaddition 1,3-dipolaire d'un azoture et d'un alcyne dans les conditions thermiques ou en présence de catalyseurs cuivre(I) ou de ruthénium(II).

En 2002, le groupe de Meldal introduit l'utilisation des sels de cuivre (I) pour catalyser cette cycloaddition¹²², permettant la synthèse régiosélective, à température ambiante, d'un triazole disubstitué en position 1 et 4 : la CuAAC est née. Cette réaction a été développée en parallèle par le groupe de Sharpless qui propose rapidement un premier mécanisme.¹²³

D'autres sels métalliques ont également été testés ($NiCl_2$, $PtCl_2$, $PdCl_2$).¹²⁴ Le catalyseur à base de platine présente une activité significative par rapport à la réaction non catalysée, mais la cinétique est 10 fois plus lente que dans le cas de $CuBr$.

Enfin, il apparaît intéressant de noter que certains catalyseurs à base de ruthénium favorisent la formation de l'isomère 1,5 lors de la cycloaddition, comme démontré par le groupe de Sharpless.¹²⁵ Cependant, cette réaction ne peut être considérée comme click car elle ne se déroule pas dans l'eau et de plus nécessite un chauffage du milieu réactionnel.

I.4.3 Les sources de cuivre pour la cycloaddition 1,3-dipolaire azoture-alcyne catalysée par le cuivre (I) (CuAAC)

Le cuivre (I) est reconnu comme le métal de choix pour catalyser la cycloaddition azoture-alcyne. Différentes méthodologies ont été développées pour générer la forme cuivreuse du catalyseur.

Le tableau 2 résume les principaux systèmes (catalyseurs et solvants) cités dans les publications traitant de la chimie click. Meldal et collaborateurs ont par ailleurs établi la liste exhaustive des sources de cuivre(I) utilisées ainsi que les conditions associées entre 2001 et 2008.¹²⁶

Degré d'oxydation initial	Catalyseurs	Additifs	Bases additionnelles	Solvants
Cu ^I	CuI CuBr Cu(PPh ₃) ₃ Br	aucun	Triéthylamine 2,6-lutidine DIPEA	DMF THF Toluène MeCN
Cu ^{II}	CuSO ₄ .5H ₂ O	Acide ascorbique	Aucune	H ₂ O/Alcool 1:1
Cu ⁰	Cuivre métal Poudres/nanoparticules	Sel d'ammonium	Aucune	H ₂ O/Alcool 2:1

Tableau 2. Récapitulatif des principaux systèmes catalytiques pour la CuAAC.*1.4.3.a Formation du catalyseur cuivre(I) par réduction des sels de cuivre(II).*

La méthode la plus commune pour former un sel de Cu(I) consiste à réduire des sels de cuivre(II), comme le sulfate de cuivre pentahydraté (CuSO₄.5H₂O), par l'action d'un excès d'acide ascorbique. L'acétate de cuivre(II) peut aussi être utilisé comme source de cuivre(II) en présence d'autres agents réducteurs tels que l'hydrazine ou la tris(2-carboxyéthyl) phosphine (TCEP). Cette réaction est le plus souvent réalisée dans un mélange eau-alcool même si des co-solvants organiques (DMSO, THF, DMF) sont également utilisés. Cette méthode est peu coûteuse et se déroule dans une atmosphère oxygénée.

Une alternative consiste à utiliser des ligands stabilisant l'atome de cuivre dans son degré d'oxydation +1, tout en augmentant son activité.

Le premier mécanisme proposé pour la CuAAC est présenté dans le schéma 5. La première étape consiste en l'addition du cuivre(I) sur l'alcyne après élimination du proton terminal. Le complexe d'acétylure de cuivre (I) formé interagit avec l'azoture, activant ainsi l'attaque nucléophile du carbone sur l'atome d'azote terminal afin de former un métallacycle. Il s'ensuit une contraction du cycle (élimination réductrice) pour former le complexe triazolure de cuivre. Enfin, le triazole attendu est généré par une protonation, entraînant la libération du cuivre qui peut rentrer dans un nouveau cycle catalytique.

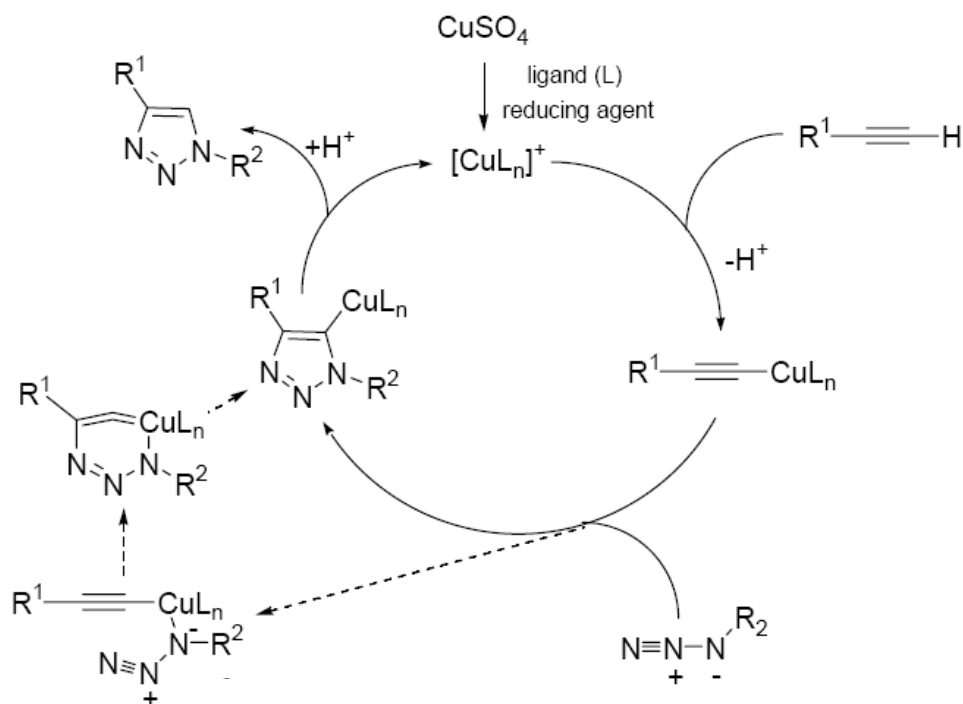


Schéma 5. Mécanisme proposé pour la CuAAC en présence d'un ligand.

L'utilisation de différents ligands chélatants hétérocycliques azotés a été rapportée. Certains de ces ligands sont eux-mêmes issus d'une réaction click et peuvent comporter 1, 2 ou 3 groupements triazoles (Figure 41). Parmi ces ligands on retrouve la tris-(benzyltriazolylméthyl)amine (TBTA)¹²⁷ et la tris-(hydroxypropyltriazolylméthyl) amine (THPTA).¹²⁸ Cette dernière forme un complexe de cuivre(II) très soluble dans l'eau et stable sur le long terme. Ces ligands permettent d'accélérer fortement les réactions de CuAAC.

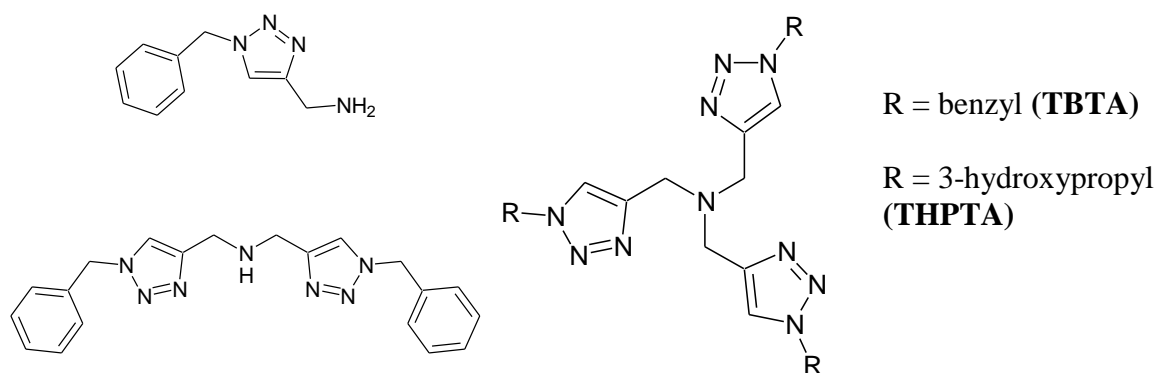


Figure 41. Exemples de ligands triazoles et polytriazoles pour la CuAAC.

Les ligands possédant trois benzimidazoles ou benzothiazoles ont montrés eux aussi une bonne activité.¹²⁹ Les études menées par le groupe de Finn suggèrent que ces nouveaux ligands sont plus fortement liés au cuivre que dans le cas de leur analogue tris(triazolylméthyl)amine.

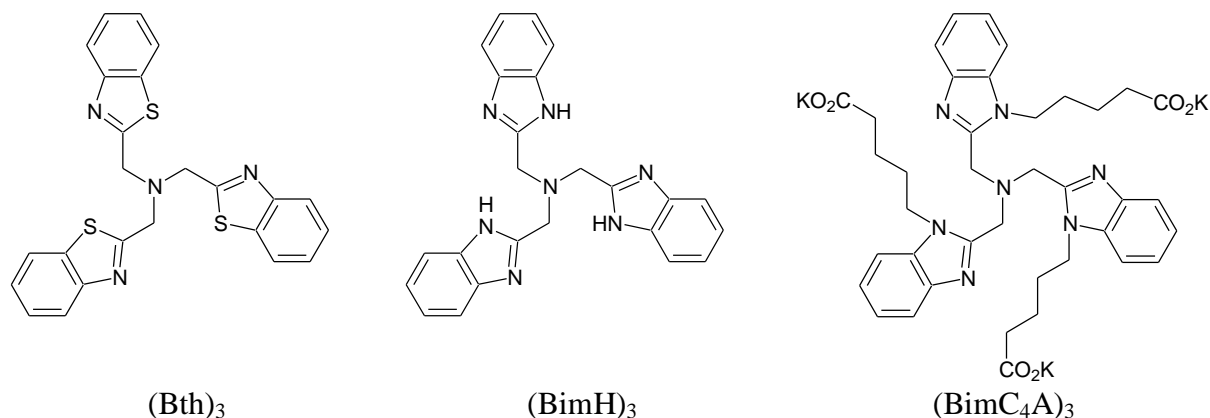


Figure 42. Exemples de ligands de type benzimidazole et benzothiazole pour la CuAAC.

Les dérivés de la pyridine ont également fait l'objet de nombreuses études afin d'évaluer leur efficacité catalytique. Avec ce type de bases/ligands de meilleurs résultats sont obtenus en utilisant des sels de cuivre(I) comme CuI. Le disulfonate de la bathophénanthroline¹³⁰ présente une efficacité similaire voir supérieure à celle du standard TBTA.

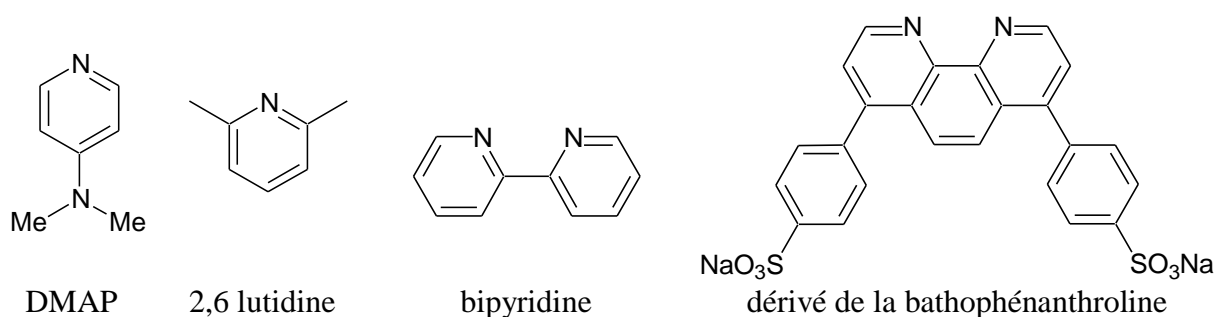


Figure 43. Exemples de ligands de type pyridine et phénanthroline pour la CuAAC.

Des dérivés d'imine comme les pyridylimines ont été utilisés pour la CuAAC.¹³¹ Ces additifs présentent l'inconvénient d'être peu stables (ils doivent être stockés à 0°C et sous atmosphère inerte), néanmoins, le ligand tétradenté de type de benzimidazolylimine possède quant à lui une meilleure stabilité.¹³² Il donne une bonne activité dans un mélange acétonitrile/eau. D'autres ligands utilisables en milieux non hydroalcooliques ont également fait l'objet d'études. Par exemple, l'équipe de Finn a montré que les ligands azotés de types bis(oxazolinyle)pyridine ou « pybox » permettaient d'accélérer la réaction de cycloaddition

dans le dichlorométhane tout en induisant une enantiosélectivité par résolution cinétique d'un racémique.¹³³

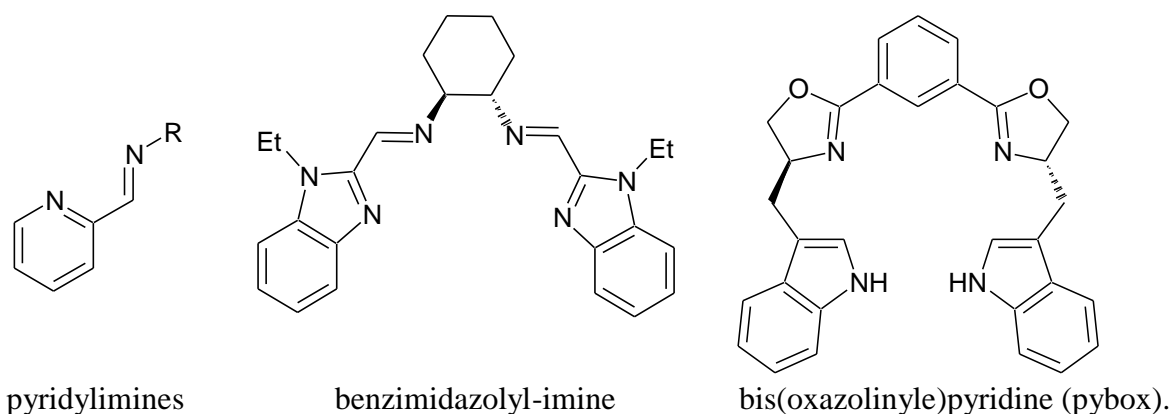


Figure 44. Exemples de ligands contenant les fonctions imines et oxazoline pour la CuAAC.

Les phosphoramidites sont aussi efficaces pour accélérer la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le cuivre.¹³⁴ L'avantage de ces ligands est la solubilité de ses complexes en milieu apolaire organique, ce qui permet de réaliser les réactions de CuAAC en conditions homogènes, ce qui est favorable à certaines applications. Ils peuvent être utilisés aussi bien avec des sels de cuivre(II) en présence d'acide ascorbique qu'avec des sels de cuivre(I).

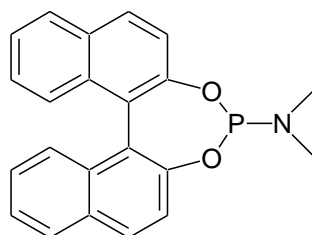


Figure 45. Exemple de ligand phosphoramidite pour la CuAAC.

Il existe un cas particulier de complexe de cuivre(II) actif qui ne nécessite pas l'addition d'un réducteur pour catalyser la réaction de cycloaddition. Ce complexe contient un ligand soufré, le bis(2-benzylthio)éthyl)amine capable de stabiliser le cuivre. Ce catalyseur a été utilisé pour la réaction de CuAAC où l'azoture est formé *in situ*.¹³⁵ Le mécanisme n'est pas encore établi.

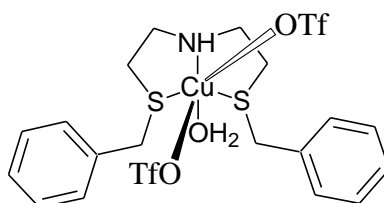


Figure 46. Complexe cuivre(II) actif sans réducteur pour la CuAAC.

Enfin, Zhu rapporte récemment que l'acétate de cuivre(II) seul est capable de catalyser la réaction CuAAC de dérivés de type 2-azido picoline.¹³⁶ Dans ce cas précis, le cuivre(II) se lie avec l'azote de la picoline et un azote de l'azoture puis est rapidement réduit par le solvant (méthanol ou tert-butanol) en cuivre(I). Cette méthode reste cependant limitée aux groupements azoture fonctionnalisant certains hétérocycles azotés.

1.4.3.b Formation du catalyseur Cu(I) par addition de sels de Cu(I)

Une seconde méthode consiste à introduire directement le sel de cuivre(I). Différents composés ont été utilisés comme CuBr, CuI, CuOTf.C₆H₆ et [(Cu(NCCH₃)₄][PF₆] etc...

En général, lorsque la source est du cuivre(I), il a été remarqué que l'addition d'un excès de base permettait d'accélérer la réaction et d'obtenir le triazole avec un meilleur rendement.¹³⁷ Cela s'explique par le fait que les bases aident à la formation du complexe Cu(I)-acétylure par déprotonation.

Les bases les plus utilisées sont la triéthylamine et la diisopropyléthylamine (DIPEA), qui peuvent être employées dans des solvants organiques. Dans certains cas, l'utilisation de la DIPEA limite la formation des produits secondaires.

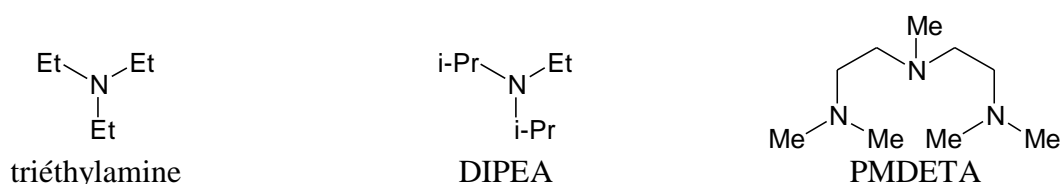


Figure 47 . Exemples de bases/ligands pour stabiliser le cuivre (I)

D'autres additifs peuvent être utilisés pour stabiliser le cuivre, des essais avec des ligands N,O-donneurs ont été menés. Les résultats pour le composé dérivé de l'histidine montrent une efficacité similaire à celle obtenue dans le cas de la DIPEA et de la triéthylamine.¹³⁸

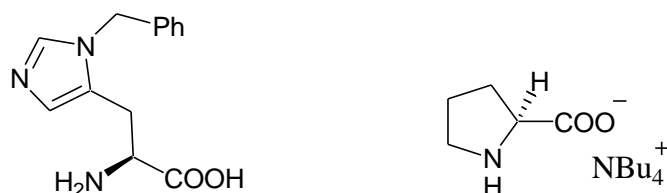


Figure 48 . Exemples de ligands N,O : dérivé de l'histidine et proline.

1.4.3.c Catalyseurs Cu(I) stables

La stabilité redox du cuivre(I) apparaît comme un point essentiel pour le développement de nouveaux catalyseurs de cuivre utilisables pour la CuAAC. De nombreuses études ont été menées pour élaborer des complexes stables de cuivre(I).

Le complexe de cuivre(I) $[\text{Cu}(\text{C18}_6\text{tren})]\text{Br}$ ($\text{C18}_6\text{tren}$ = tris(2-dioctadecylaminoethyl)amine) présente une excellente stabilité en milieu oxygéné. Le ligand tridentate protège efficacement le cuivre(I) contre l'oxydation tout en augmentant l'activité de celui-ci pour la réaction de cycloaddition.¹³⁹ Il est à noter que ce complexe peut être utilisé pour catalyser la cycloaddition 1,3-dipolaire entre un azoture et un alcyne interne. Ce catalyseur respecte les conditions d'une réaction click, il est particulièrement soluble dans les solvants hydrocarbonés ce qui permet de l'isoler facilement des produits de la réaction par une simple filtration. En ce qui concerne le recyclage du catalyseur, il peut être réutilisé deux fois sans qu'une baisse de rendement ne soit observée. Néanmoins, ce catalyseur nécessite un chauffage à 60 °C pour que son activité soit suffisamment élevée.

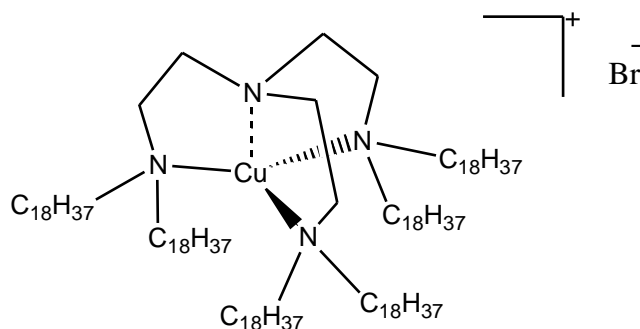


Figure 49 . Catalyseur cuivre(I) $[\text{Cu}(\text{C18}_6\text{tren})]\text{Br}$.

Le ligand tris(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4yl)méthanol issu d'une triple CuAAC forme un complexe stable après réaction avec CuCl. Le complexe formé est stable à l'air et présente une bonne activité catalytique sur un large spectre de substrats.¹⁴⁰ Cependant, les résultats montrent aussi que la présence éventuelle d'une amine libre portée par le substrat de départ inhibe fortement la réaction. Le design de ce complexe est intéressant, en effet le ligand présente deux faces bien distinctes l'une hydrophobe et l'autre hydrophile ce qui permet de travailler dans les conditions *on water*. De plus, le groupe hydroxyle pourrait permettre d'ancrer la molécule sur des matériaux polymériques.

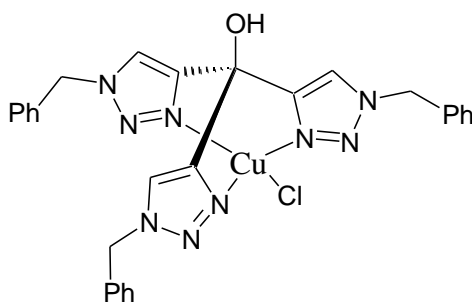


Figure 50. Catalyseur cuivre(I) tris(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4yl)méthanol

L'utilisation de ligands comportant des soufres présente un grand potentiel même si ces derniers restent encore peu étudiés. Dans un premier temps, le complexe $\text{CuBr} \cdot (\text{Me})_2\text{S}$ a été utilisé comme source de cuivre soluble dans les solvants organiques de manière similaire au complexe $[(\text{Cu}(\text{NCCH}_3)_4)[\text{PF}_6]]$. Par la suite, d'autres recherches se sont portées sur l'utilisation de ligands soufrés simples comme dans le cas du complexe cuivre(I)-aminearenethiolato. Ce catalyseur stable à l'air n'est pas réactif dans l'eau mais permet de bonnes réactions dans le dichlorométhane.¹⁴¹

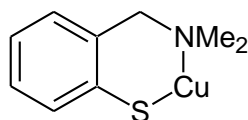


Figure 51. Catalyseur cuivre(I)-aminearenethiolato.

Enfin, l'équipe de Nolan a mis au point des NHC-cuivre(I) (NHC = N-hétérocyclique carbène) comme le complexe hétéroleptique $[\text{CuBr}(\text{SIMes})]$ qui présente une bonne réactivité.¹⁴² Ce complexe présente une excellente stabilité vis à vis de la température et de l'oxygène. D'autres complexes homoleptiques cationiques du type $[(\text{NHC})_2\text{Cu}]\text{X}$ ($\text{X} = \text{PF}_6, \text{BF}_4$) synthétisés par la même équipe ont montrés une efficacité inégalée en milieu sans solvant pour la cycloaddition 1,3-dipolaire.¹⁴³ Le deuxième NHC semble avoir un rôle actif dans le mécanisme catalytique. En effet, la formation du complexe Cu-acétylure conduit au départ d'un ligand NHC pour former le sel d'azolium correspondant. Ce sel sert alors de source de proton à la fin du cycle catalytique pour reformer le complexe de départ.

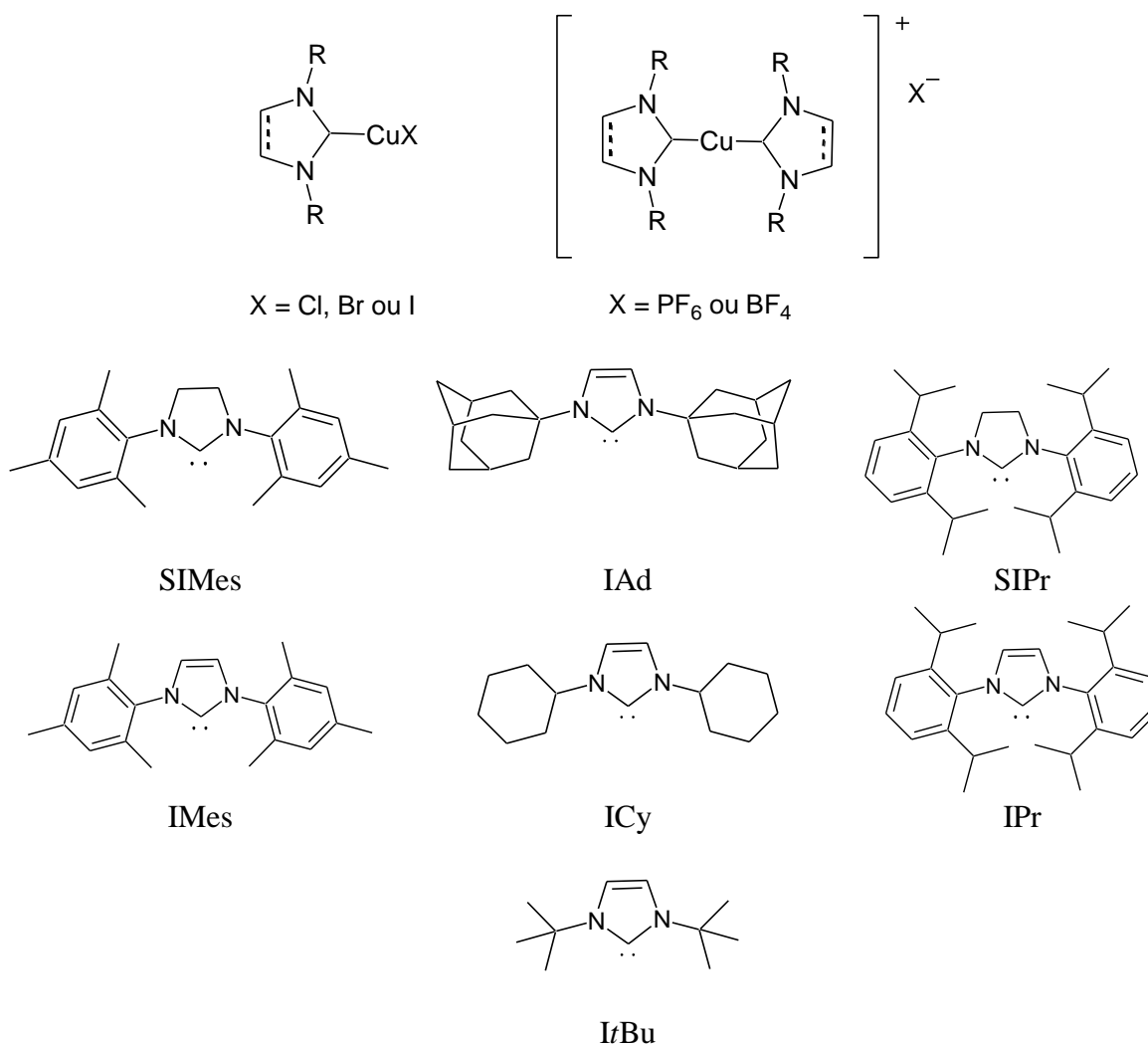


Figure 52. Exemples de catalyseurs Cu(I)-NHC.

1.4.3.d Autres sources de cuivre

Les ions de cuivre(I) peuvent être également obtenus par oxydation de cuivre métallique, sous forme de poudre¹⁴⁴ ou de nanoparticules.¹⁴⁵ La présence de cuivre sous forme solide permet de faciliter la purification du produit.

D'autres systèmes de cuivre(I) ont également fait l'objet d'études. Ainsi un système hétérogène de cuivre sur charbon est rapporté par Lipshutz. Dans ce cas, les espèces Cu(I) sont présentes sur le charbon actif traité au nitrate de cuivre(II). Ce type de catalyse ne nécessite pas d'agent réducteur, ni de ligand ou de base, bien que la réaction puisse être accélérée par une quantité stœchiométrique de triméthylamine.¹⁴⁶

Un autre exemple de catalyse hétérogène de CuAAC est donné par le group de Somer qui utilise comme catalyseur un matériau Cu(I)-Zéolites.¹⁴⁷

I.4.4 Applications de la cycloaddition CuAAC

L'utilisation de la CuAAC en combinaison avec d'autres réactions chimiques a permis la synthèse rapide d'une grande variété de structures d'intérêt biologique. Les différentes applications dans le domaine chimie-biologie de la CuAAC sont brièvement présentées ci-dessous.

Le motif triazole peut mimer structuralement la fonction amide, servir de ligand pour les métaux ou lier différentes molécules de complexité variées. La ligation CuAAC de deux molécules, l'une comportant un azoture et l'autre un alcyne, est une réaction simple et rapide à mettre en œuvre ; quelques fois cette réaction peut être réalisée directement dans des conditions *in vivo*.

I.4.4.a Les triazoles comme bioisostères

Il est important d'établir le profil bioisostérique de ces nouveaux composés. Des travaux montrent que le groupe triazole 1,4-disubstitué présente une similarité structurale avec les liaisons amides. En effet, ce triazole est considéré comme mime de la forme rotamère Z d'une fonction amide.¹⁴⁸ Ainsi le doublet de l'azote N-3 mime un des doublets de l'oxygène du carbonyle. La liaison polarisée C5-H peut jouer le rôle de donneur d'hydrogène non-classique et mimer le NH de l'amide. Enfin le carbone C-4 présente un caractère électrophile similaire à celui du carbonyle de l'amide (Figure 53).

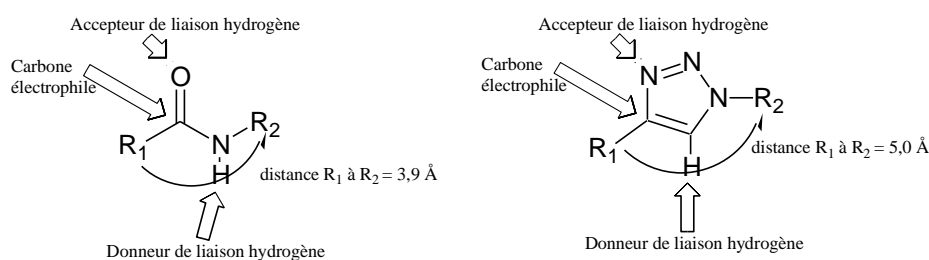


Figure 53. Similarités électroniques et topologiques entre un amide et un 1,2,3-triazole .

I.4.4.b Concept 'peptides modifiés'

Meldal et collaborateurs sont les premiers à avoir abordé la synthèse sur support solide de mimes de peptides via un lien triazole.¹²² Les conditions réactionnelles (CuI en présence de DIPEA à température ambiante) sont compatibles avec les stratégies de synthèse peptidique

Fmoc- et Boc-. Les amines libres, les groupements carboxyliques ainsi que les groupes protecteurs ^tBu, trityl, Fmoc et Boc sont stables dans ces conditions.

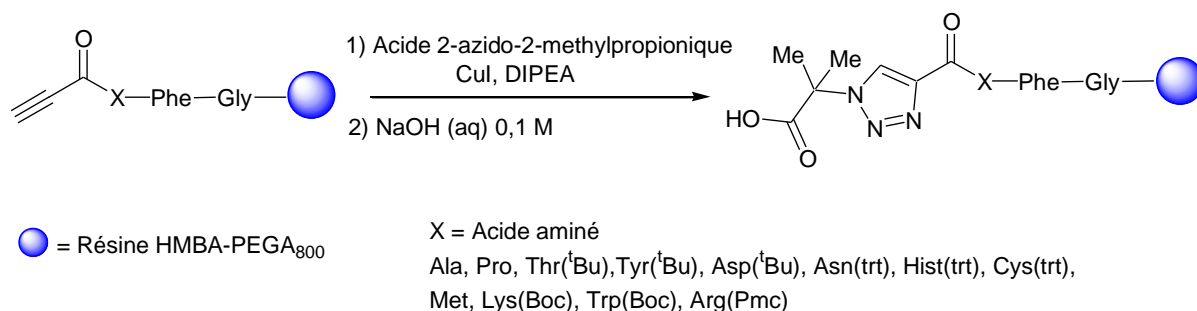


Figure 54. Synthèse sur support solide d'un peptido-triazole.

Le groupe de Arora rapporte la synthèse de triazoles oligomériques peptido-mimétiques à partir d'acides aminés portant un groupe méthyle, par la répétition de la séquence réactionnelle suivante : conversion de l'amine en azoture, réaction CuAAC avec un amino-alcyne puis déprotection de l'amine.¹⁴⁹ Ces oligomères adoptent une conformation en zig-zag similaire à celles de leurs analogues peptidiques.

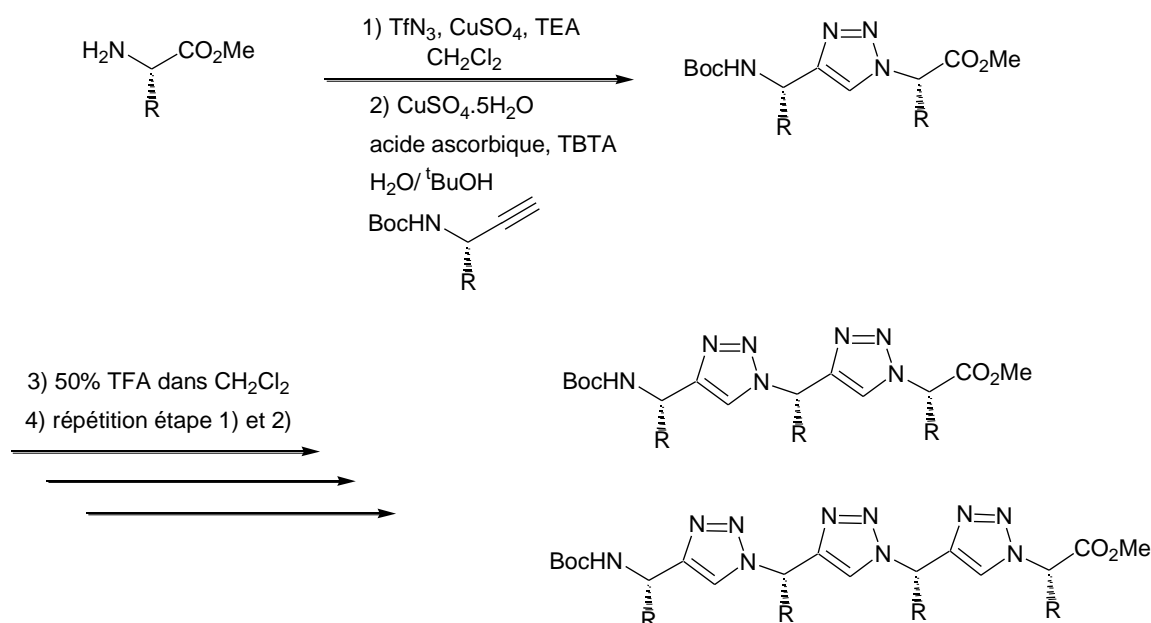


Figure 55. Synthèse d'oligomères triazoles.

Les peptides contraints de petites tailles sont souvent utilisés pour mimer des structures secondaires des protéines telles que les boucles, les structures en épingle à cheveux et les coudes β . Différentes techniques de cyclisation ont été utilisées pour former le macrocycle comme par exemple la formation de ponts disulfures, de liaisons amides, esters, thioesters et très récemment la cycloaddition de Huisgen. Souvent la ligation *via* un triazole entre deux

peptides présente de meilleurs résultats et est plus facile à mettre en œuvre comme dans le cas du peptide cyclique Tyr-Pro-Val-Pro, un inhibiteur de la tyrosinase. En effet, il a été démontré que la macrocyclisation *via* le triazole est plus facile à réaliser que la lactamisation.¹⁵⁰ La technique consiste à synthétiser le tetrapeptide comportant une fonction azoture du côté *N*-terminal et une fonction alcyne du côté *C*-terminal, puis à réaliser une réaction CuAAC cyclisante. Le peptide comportant le lien triazole conserve alors une bonne activité inhibitrice de la tyrosinase.

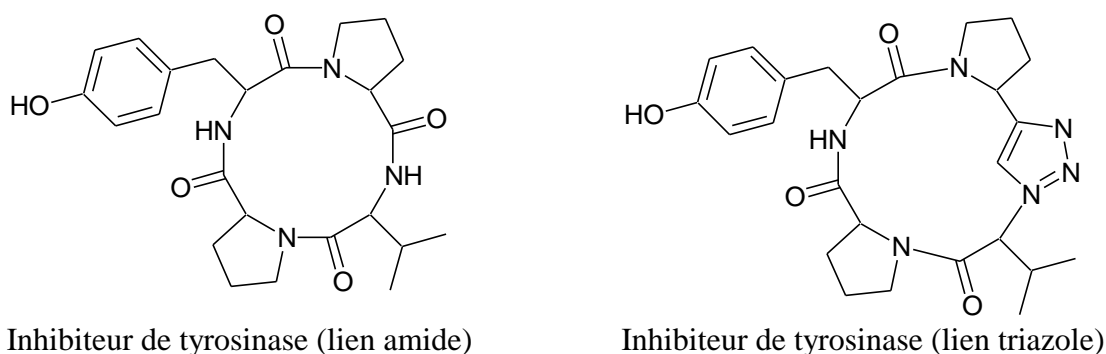


Figure 56. Peptide cyclique Tyr-Pro-Val-Pro inhibiteur de la tyrosinase.

Certains motifs présents dans la structure de protéines ont un rôle crucial pour l'interaction avec les récepteurs protéiques correspondants. Souvent, des motifs de type coude β sont incorporés dans les mimes de peptides pour conserver la conformation bioactive. Le groupement triazole peut être utilisé comme mime de coude β . Les résultats montrent que le triazole 1,4-disubstitué est un mime efficace de ce coude quand il possède des espaceurs carbonés sur les deux substituants. L'exemple ci-dessous présente un tel mime de coude β .¹⁵¹

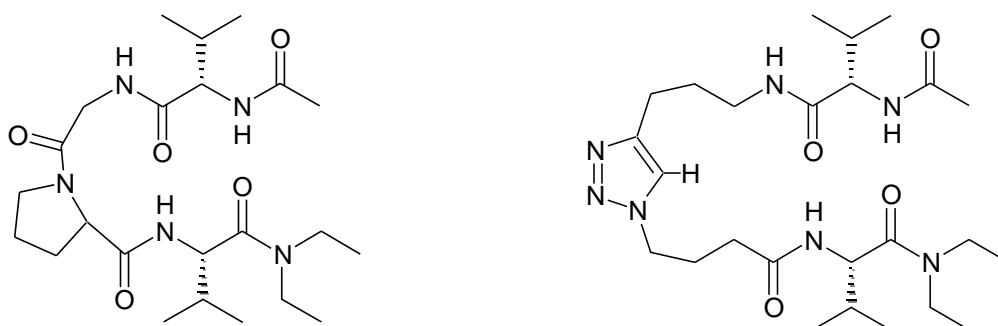


Figure 57. Comparaison des structures coude β dans un peptide formé par une proline (à gauche) et par un triazole (à droite).

La réaction de CuAAC est aussi un outil très intéressant pour la fonctionnalisation de peptides ou de peptoides modifiés. Au sein du laboratoire du laboratoire SEESIB, l'équipe de C. Taillefumier a rapporté la synthèse d'un macrocycle β -peptoid polyfonctionnalisé par des

alcynes. Un essai de fonctionnalisation par CuAAC avec des dérivés protégés de D-galactose a été réalisé avec succès (Figure 58).¹⁵²

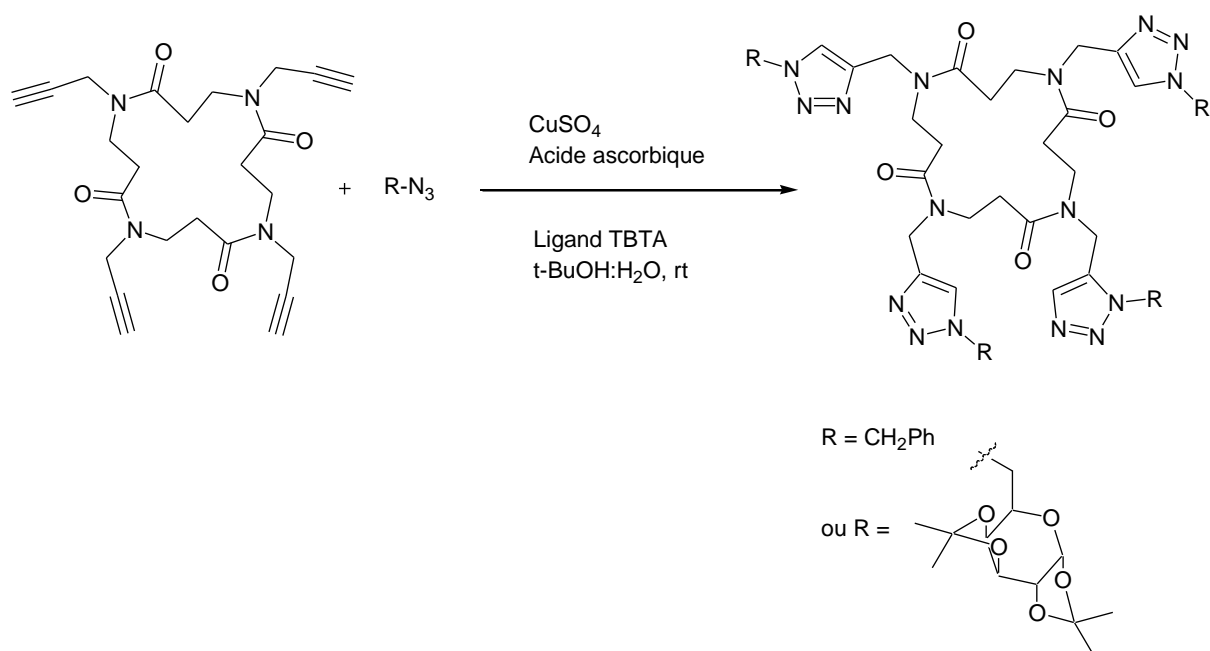


Figure 58 . Fonctionnalisation de β -peptoides cycliques par réaction de CuAAC.

1.4.4.c Conjugaison de molécules

Les 1,2,3-triazoles sont des composés stables et inertes vis-à-vis des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse en milieu biologique. Il n'est donc pas étonnant que la réaction de ligation par des groupements triazoles ait trouvé une multitude d'applications en chimie médicinale et en biologie moléculaire. Parmi les exemples, on trouve des modifications de produits naturels et de drogues, la modification de nucléotides, la ligation de sucres à des peptides.

1.4.4.d Produits naturels modifiés

Trois types de modifications des produits naturels¹²⁷ et de composés actifs ont été développés grâce à la CuAAC. Premièrement, le triazole peut être utilisé comme lien pour fonctionnaliser une molécule afin de modifier ses propriétés, comme sa solubilité, sa biodisponibilité ou sa vectorisation. Deuxièmement, le triazole peut être utilisé pour greffer un fluorophore ou un marqueur biotinylé dans les dernières étapes de synthèses et ceci dans le but de déterminer sa localisation dans une cellule ou un organisme. Enfin, la troisième application consiste à diversifier facilement la structure d'une drogue dont l'activité est connue.

1.4.4.e Synthèses de dendrimères

Les dendrimères sont des molécules synthétiques multibranchées, ils ont reçu depuis ces 25 dernières années un grand intérêt pour leurs propriétés uniques et leurs applications dans les domaines de la médecine et des matériaux. La synthèse de ces composés n'est pas simple à mettre en œuvre et il est difficile de les obtenir en grandes quantités du fait que les étapes de purification sont fastidieuses. De nombreux progrès ont été accomplis notamment grâce à la CuAAC. Le premier exemple de dendrimère synthétisé par chimie click est rapporté par le groupe de Fokin (Figure 59).¹⁵³

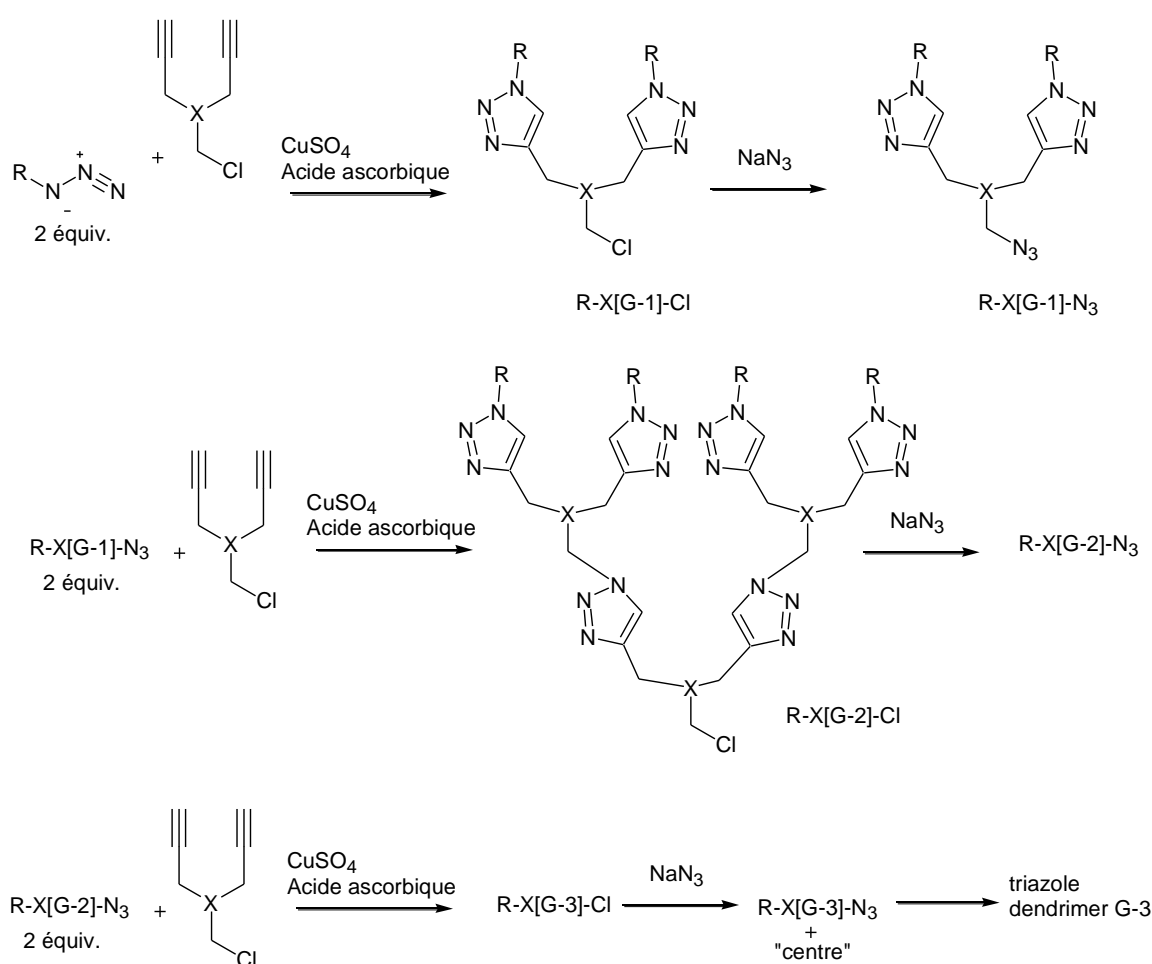


Figure 59. Synthèse de dendrimères triazoles assemblés par réaction CuAAC.

Les dendrimères sont construits en suivant une stratégie convergente, la formation du triazole sert de branchement entre les différentes unités. Les dendrons (sous unités) sont construits avec des blocs contenant un groupe chlorométhyle et deux groupes alcynes. Dans le cycle de couplage le chlorure du dendron en croissance est substitué par un azoture, puis il est couplé

via la CuAAC avec 2 équivalents de bloc parent. La synthèse de ces dendrimères est efficace jusqu'à plus de 4 générations.

1.4.4.f Immobilisation de molécules sur un support

La réaction de CuAAC a été rapportée comme un outil pertinent pour l'immobilisation de ligands sur un support solide, notamment pour la préparation de puces à ADN. Par exemple, une ligation d'un simple brin d'ADN sur une plate forme comportant une couche d'or a été réalisée en présence de cuivre (I) / TBTA (Figure 60).¹⁵⁴

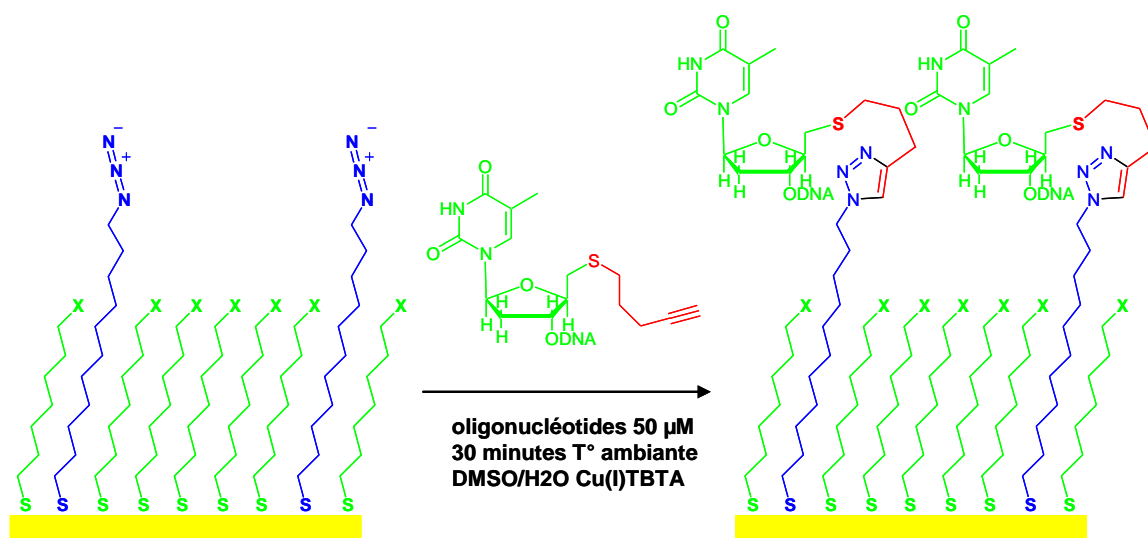


Figure 60. Immobilisation de sondes oligonucléotides sur une monocouche d'or.

La chimie click a été aussi utilisée pour l'élaboration de puces à hydrates de carbone pour mettre au point des tests de criblage d'inhibiteurs d'enzyme. Un exemple frappant rapporte que ce système permet d'identifier de nouveaux inhibiteurs de la fucosyltransférase possédant des activités de l'ordre du nanomolaire.¹⁵⁵

1.4.4.g Concept de réaction click in situ

L'approche conventionnelle pour découvrir et développer de nouveaux agents thérapeutiques consiste en la synthèse d'une collection de molécules dont l'activité est ensuite criblée. La procédure peut être raccourcie et optimisée si la cible biologique peut produire le meilleur ligand. Il a été envisagé que l'on puisse réaliser une réaction de cycloaddition non catalysée par un métal entre un azoture et un alcyne directement à l'intérieur du site actif de l'enzyme si celui-ci est bifonctionnel. La réaction a lieu seulement si les deux réactifs sont suffisamment proches. Cette stratégie a été utilisée par Sharpless et collaborateurs pour identifier les inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase (AChE).¹⁵⁶ Les résultats ont montré que

l'enzyme pouvait effectivement être considérée comme un moule guidant la synthèse de ses propres inhibiteurs. Les inhibiteurs identifiés ont une constante de dissociation (K_d) de l'ordre du fentomolaire.

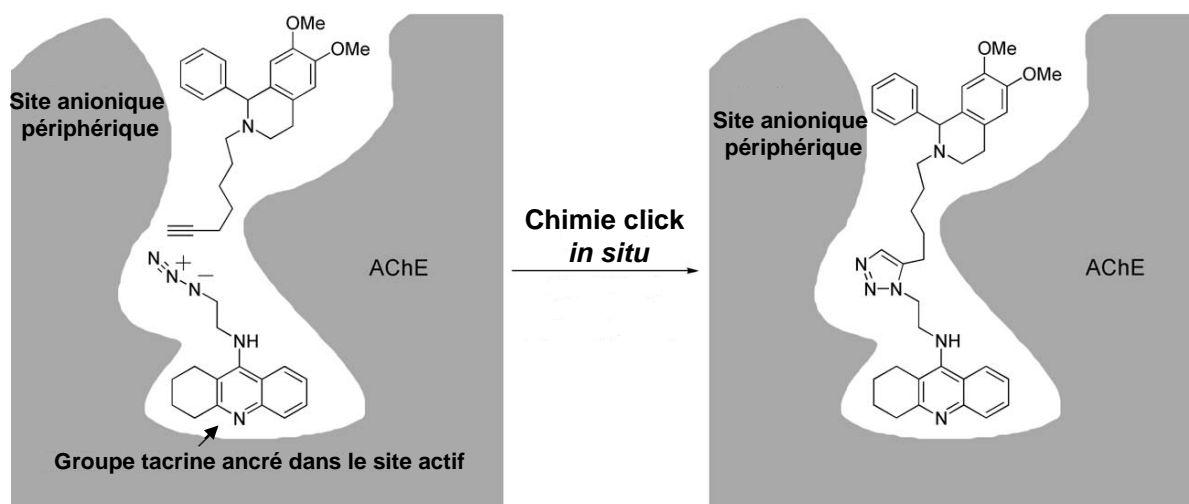


Figure 61. Représentation schématique de la réaction de cycloaddition alcyne-azoture à l'intérieur du site actif de l'acétylcholinestérase (AChE).

1.4.4.h Concept de ligand click pour chélater les métaux

Les triazoles possèdent des propriétés de coordination des métaux similaires aux imidazoles substitués. Les 1,2,3-triazoles fonctionnalisés en positions 1 et 4 sont des ligands versatiles qui présentent différents sites donneurs pour la coordination avec un métal. Il est souvent rapporté que celle-ci se fait majoritairement avec l'azote *N*-3 du triazole. Les positions *N*-2 et C-5 sont elles aussi des sites de coordination potentiels dans certains cas.¹⁵⁷ Si la structure de la molécule est adéquatement choisie, la fonctionnalisation du triazole par des atomes donneurs permet de constituer des pinces à métaux.

Conception de catalyseurs

La CuAAC a été utilisée pour la synthèse de ligands du palladium et d'autres métaux de transition dans le domaine de la catalyse. Le groupe de Zhang a synthétisé des ligands du palladium de type triazole-monophosphine (ClickPhos) qu'il a utilisés dans des couplages de Suzuki-Miyaura et de Hartwig-Buchwald.¹⁵⁸ Dans ce cas, le triazole n'est pas identifié comme un coordinaant du métal, la phosphine joue le rôle de ligand monodente.

Plus tard, l'équipe de Maarseveen a mis au point un complexe de palladium(II) avec un ligand triazole-phosphine potentiellement bidente (Figure 62) qui montre une bonne activité pour les substitutions allyliques.¹⁵⁹

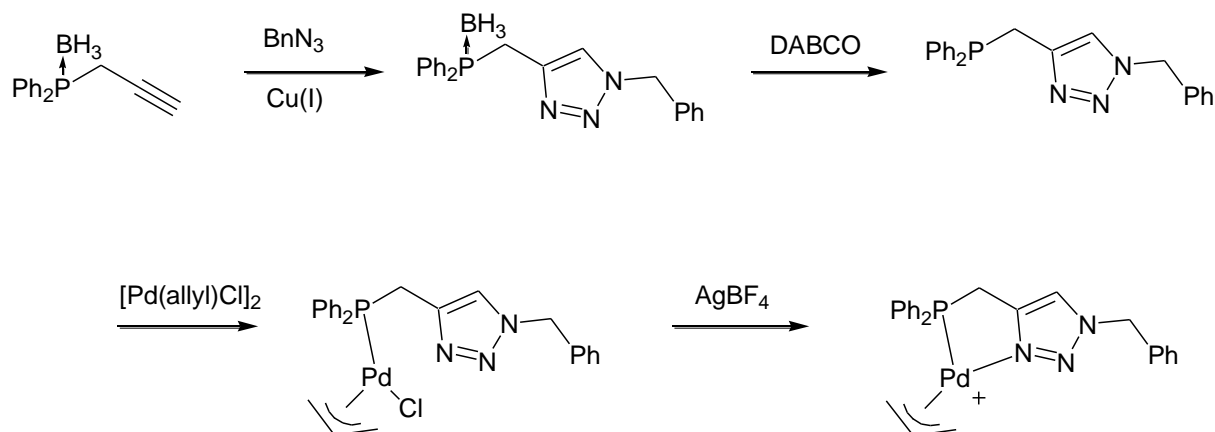


Figure 62. Synthèse d'un complexe de palladium triazole-phosphine.¹⁵⁸

Conception de métallocarbènes *N*-hétérocycliques non classiques.

Les carbènes *N*-hétérocycliques (NHC) ont un large spectre d'application en catalyse.¹⁶⁰ Récemment, des triazoles obtenus par CuAAC ont été utilisés comme précurseurs d'une nouvelle classe de ligands carbènes *N*-hétérocycliques non classiques (c'est-à-dire ne dérivant pas d'ion imidazol(in)ium).¹⁶¹ La méthylation sélective de l'azote *N*-3 d'un triazole conduit à la formation de sel de triazolium. Les complexes de palladium et d'argent sont préparés par réaction acide-base avec Pd(OAc)_2 ou Ag_2O . Les complexes de ruthénium, rhodium et d'iridium sont obtenus au départ du carbène d'argent par transmétallation.

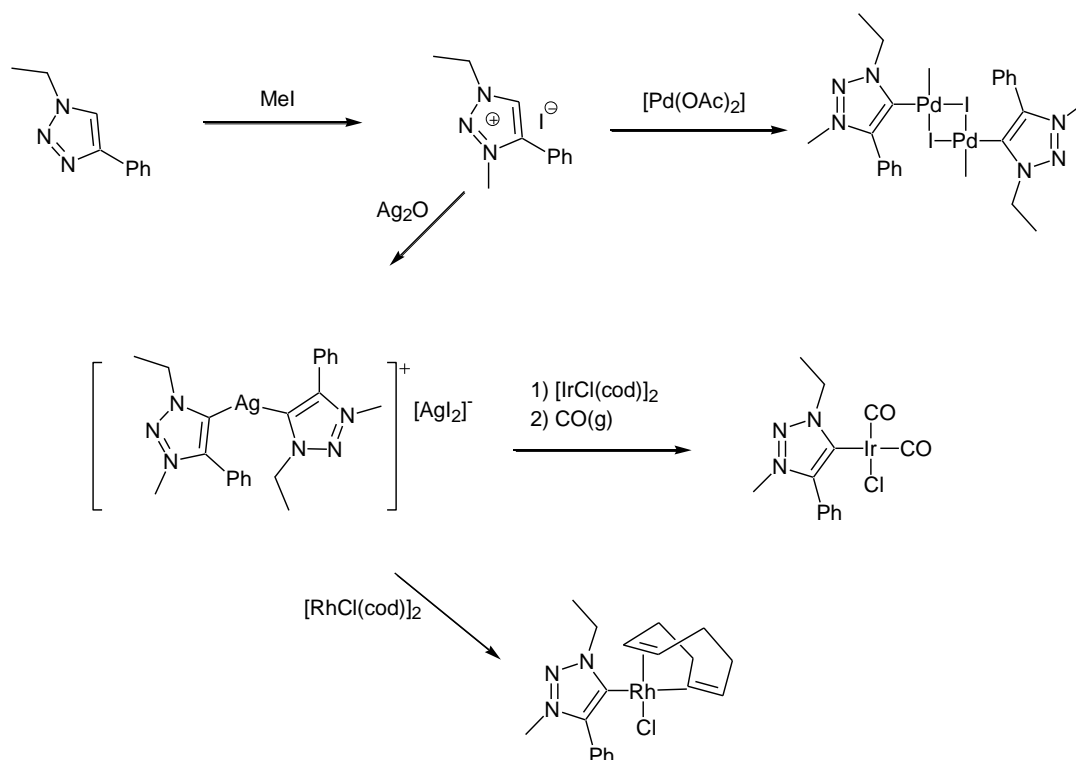


Figure 63. Ligands de type carbènes *N*-hétérocycliques non classique dérivés de triazoles.

Complexes de rhénium(I) et de technétium(I)

Le marquage isotopique de molécules est devenu un outil indispensable pour la détection de cancers. Ces dix dernières années, des recherches ont été menées sur des complexes organométalliques comportant du ^{99m}Tc ou du ¹⁸⁸Re. Un grand nombre de ligands fonctionnalisés ont été développés pour permettre une bonne chélation. Les synthèses multi-étapes utilisées sont généralement peu efficaces. La CuAAC a été utilisée par le groupe de Schibli pour améliorer la synthèse des ligands chélateurs du rhénium et du technétium afin de marquer des biomolécules ciblant des tumeurs.¹⁶²

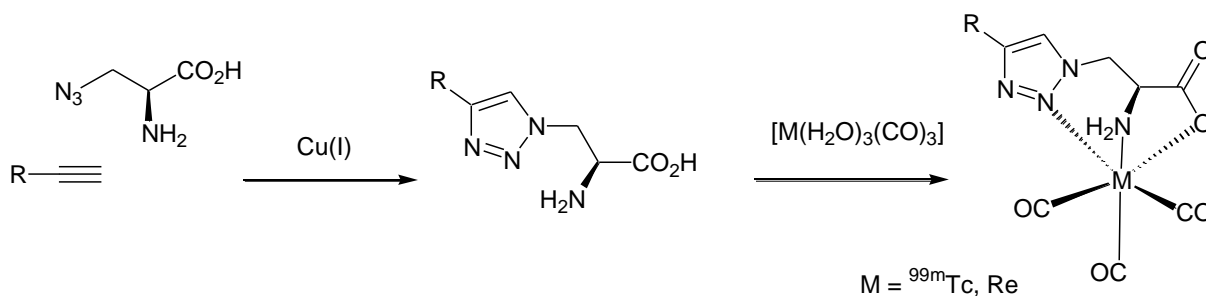


Figure 64. Ligands tridentes comportant une unité triazole pour la chélation des métaux ^{99m}Tc ou du ¹⁸⁸Re.

Complexes de platine

Au sein du laboratoire SEESIB, l'équipe de Gautier a développé une petite librairie de 1,2,3-triazole 1,4-disubstitués. Ces ligands sont de type *N,O*- ou *N,N*- donneur et chélatent le platine(II) et le palladium(II). La structure de ces composés permet de former une pince à métaux. La chélation du métal se fait via un azote du triazole et une fonction exocyclique (amine, carboxylate).

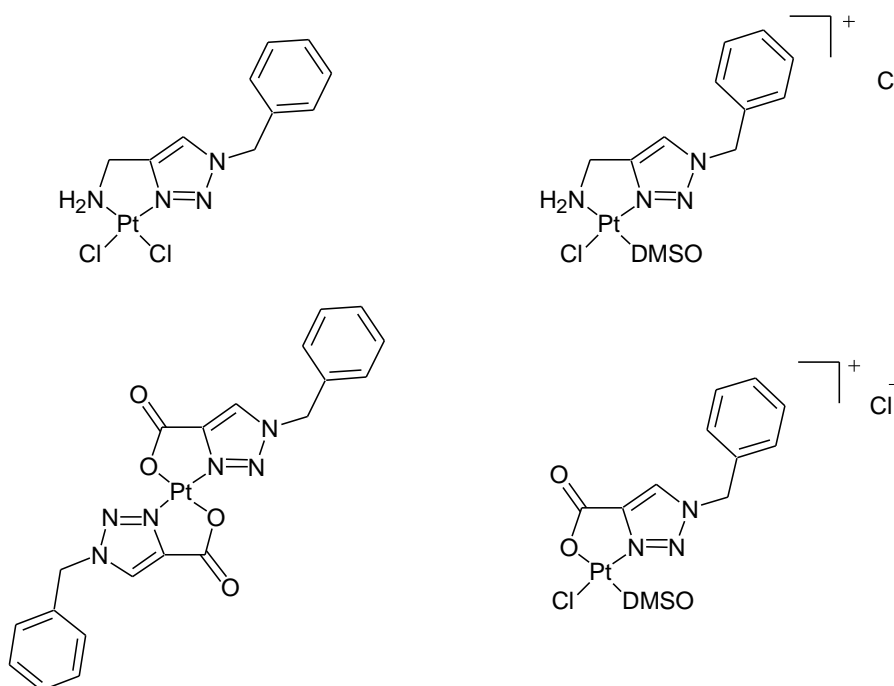


Figure 65. Complexes de platine avec des ligands bidentes comportant des triazoles.¹⁶³

1.4.4.i Réactions de CuAAC fluorogéniques

Les produits fluorescents synthétisés par CuAAC sont utilisés pour la localisation cellulaire de biomolécules.

Des études récentes ont été menées afin de mettre en œuvre des réactions de CuAAC fluorogéniques entre des substrats non-fluorescents. Ces réactions de ligation conduisent à la formation de composés hautement fluorescents.

La première réaction de ce type a été rapportée simultanément par deux équipes qui ont utilisé des dérivés de la coumarine. Celle-ci a été choisie comme précurseur du fait de sa petite taille, de sa biocompatibilité et car elle est facilement manipulable en synthèse. L'introduction d'un alcyne vrai ou d'un azoture en positions 3 ou 7 de la coumarine produit une perte totale de

fluorescence. Par contre, la formation d'un triazole est sensée rétablir les propriétés optiques¹⁶⁴ La réaction de CuAAC peut donc servir dans ce cas d'indicateur *On-Off*.

Conformément à ce principe, l'équipe de Fahri a préparé une coumarine non fluorescente fonctionnalisée en position 7 par un alcyne. Après réaction de CuAAC, la fluorescence est restaurée par la formation du triazole (Figure 66.A).¹⁶⁵

Le même principe peut être appliqué en utilisant un azoture. L'équipe de Wang a développé une méthode similaire basée sur une série de 3-azidocoumarines non fluorescentes. Après réaction de cycloaddition avec différents alcynes vrais, les triazoles formés sont hautement fluorescents (Figure 66.B).¹⁶⁶

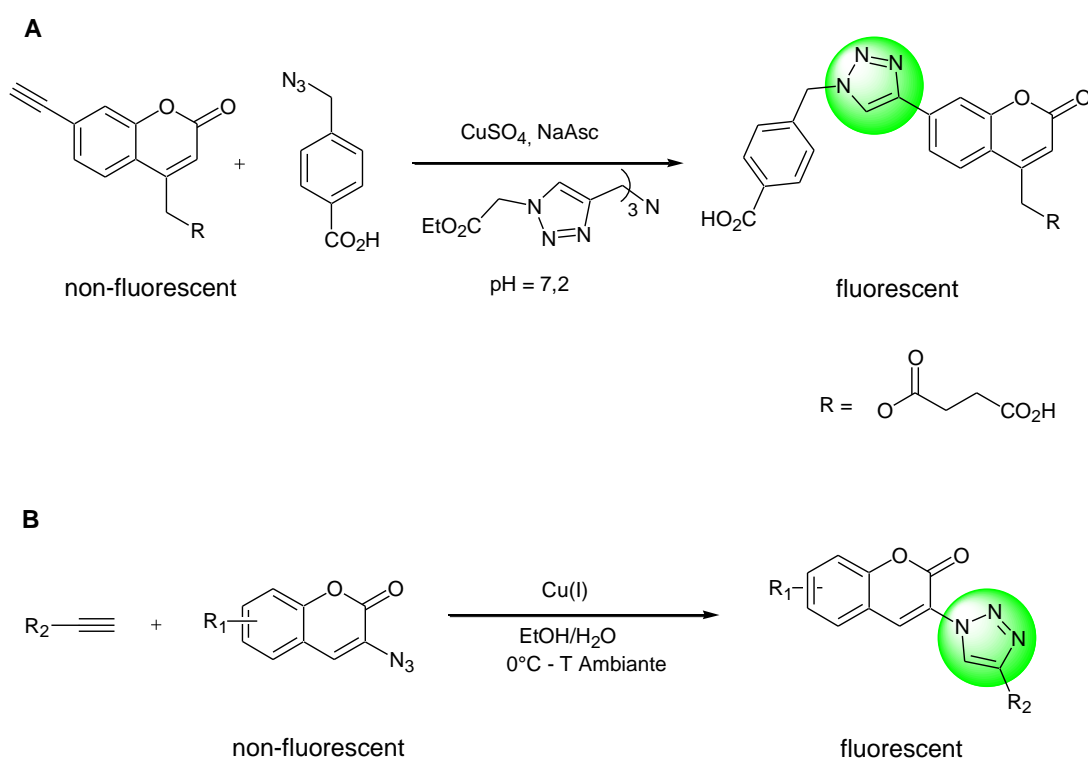


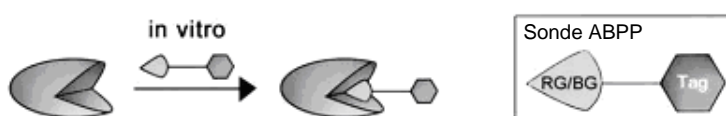
Figure 66. Réactions de CuAAC fluorogéniques basées sur des dérivés de la coumarine non-fluorescents.

1.4.4.j Concept de marquage des systèmes cellulaires

Le développement de méthodes pour déterminer le profil d'activité d'enzymes *in vivo* est nécessaire pour comprendre le rôle de certaines protéines et leur régulation dans les processus physiologiques et pathologiques. Les stratégies initiales pour l'approche protéomique sont basées sur l'utilisation de gels d'électrophorèse à deux dimensions et de l'HPLC couplée à la spectrométrie de masse pour la séparation, la quantification et l'identification des protéines. Ces méthodes ne permettent malheureusement qu'une simple estimation indirecte de

l'abondance des protéines. Pour contourner ce problème, d'autres méthodes rassemblées sous le concept ABPP (« Activity-Based Protein Profiling ») ont été développées. Elles font appel à des sondes chimiques qui ciblent directement le site actif de la protéine. Les sondes ABPP sont généralement constituées de deux parties : 1) un groupe réactif pour former un lien covalent avec le site actif de l'enzyme ou un groupe ayant une affinité avec celui-ci, et 2) un ou plusieurs agents de marquage (biotine et/ou fluorophore) pour la détection finale de l'enzyme (Figure 67.A). Une méthode de marquage utilisant la CuAAC et étant de plus utilisable *in vivo* a été développée par l'équipe de Cravatt (Figure 67.B).¹⁶⁷

A) Méthode ABPP « standard »



B) Méthode ABPP « chimie click »

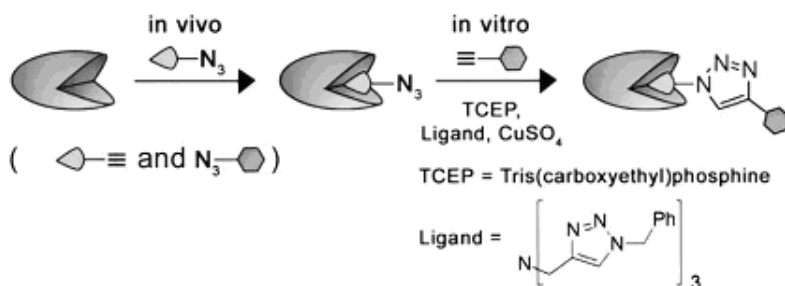


Figure 67. Principe du marquage cellulaire par la méthode ABPP.

Chapitre II : Synthèses de nouveaux ligands du platine par « chimie Click »

II.1. Introduction

La recherche de nouveaux complexes métalliques susceptibles de contourner les phénomènes de résistance du cisplatine reste un challenge dans le domaine de la chimie inorganique médicinale. Les complexes de platine de type pyrazole et 1,2,3-triazole développés par Reedijk ont fortement motivé au sein de l'équipe, la recherche de nouveaux ligands pinceurs du platine comportant un cycle triazole. Avant mon arrivée au laboratoire, il avait été envisagé de mettre à profit la réaction de CuAAC pour générer une gamme de composés contenant un motif 1,2,3-triazole substitué en positions 1 et 4, pour mener à de nouveaux complexes de platine mono- ou binucléaires.

Dans les complexes envisagés, le platine est chélaté par un des azotes du triazole et par une fonction exocyclique (amine, carboxylate). Les ligands peuvent être classés en deux catégories selon Schibli ¹⁶²:

- Les ligands click « directs » dans lesquels le substituant de la chaîne en position C-4 et l'azote N-3 du triazole participent à la chélation du platine
- Les ligands click « inversés » dans lesquels la chélation est obtenue avec l'azote N-2 du triazole et le substituant de la chaîne porté par l'azote N-1.

Les ligands directs et inverses permettent respectivement la formation respectivement de complexes contenant des métallacycles à 5 et 6 chaînons (Figure 68).

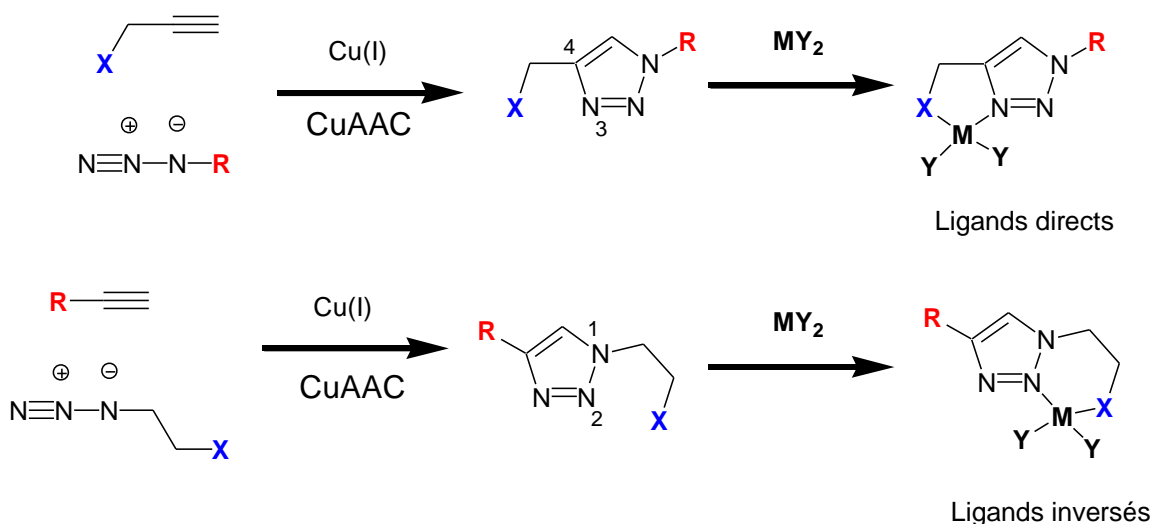


Figure 68. Stratégies de synthèse de complexes de platine comportant des ligands 1,2,3-triazoles bidentes.

Le design de ces ligands click permet d'obtenir une grande variété de produits de façon simple et rapide. Il est intéressant de noter que l'on peut faire varier les différents groupements R, le groupe donneur X, les ligands ancillaires du métal (Y) :

- Le groupement R peut être un groupe alkyle, amide, benzyle... Ces groupements peuvent facilement intégrer des groupements apportant un intérêt pour la solubilité, la réactivité du complexe avec l'ADN cible, ou facilitant le transport du complexe dans ou vers la cellule.
- Le groupement donneur X peut être une amine ou un acide carboxylique. Ces hétéroatomes doivent avoir une grande affinité pour le métal et ne doivent pas être labiles.
- Les ligands ancillaires Y permettent, selon leur nature, d'obtenir des complexes métalliques neutres ou chargés. Généralement, par analogie avec le cisplatine, les ligands sont des chlorures.

La figure 69 présente quelques exemples de complexes de platine mononucléaires obtenus et ayant fait l'objet d'une publication par l'équipe avant mon arrivée au laboratoire.¹⁶³ Ce travail a notamment permis de poser les bases expérimentales nécessaires à la validation de cette stratégie.

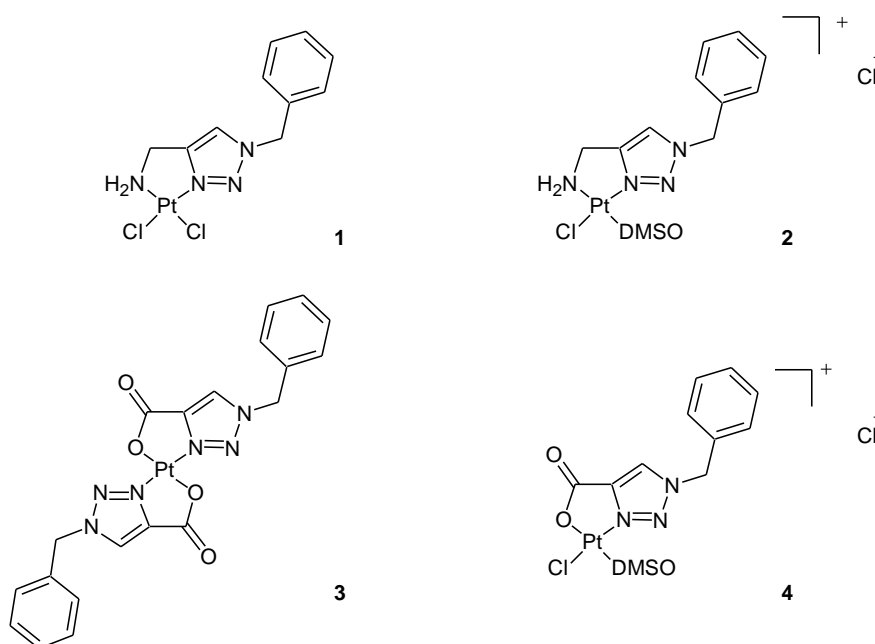


Figure 69. Exemples de complexes de platine possédant des ligands bidentes de type triazole.

Les différents complexes avaient été synthétisés et leurs potentiels cytotoxiques évalués sur des lignées cancéreuses humaines. Ces quatre complexes ont été soumis à un pré-criblage

d'activité aux concentrations de 50 et 25 μM sur trois lignées cellulaires cancéreuses (MCF7 : sein, PA1 : ovaire et A549 : poumon) et sur les fibroblastes (lignée saine), afin d'évaluer leur inhibition potentielle de la croissance des cellules (Tableau 3). Ce test a permis d'évaluer l'influence de la coordination du métal (N_2Cl_2 (**1**), N_2SCl (**2**), N_2O_2 (**3**), NOSCl (**4**)).

	PA1		MCF7		A549		Fibroblaste	
	50 μM	25 μM	50 μM	25 μM	50 μM	25 μM	50 μM	25 μM
(1)	100	98	80	76	45	40	40	35
(2)	95	75	45	20	35	35	25	20
(3)	50	40	20	0	23	17	20	10
(4)	40	40	15	5	30	27	10	5
Cisplatine	100	100	95	75	100	100	95	92

Tableau 3. Pourcentages d'inhibition de la croissance des cellules aux concentrations de 50 et 25 μM des composés (1), (2), (3) et (4) comparés à ceux obtenus avec le cisplatine.¹⁶³

Le complexe (**1**) présente une cytotoxicité significative sur les lignées cellulaires PA1 et MCF. Les mesures des IC_{50} (concentration inhibitrice à 50 %) pour ce complexe ont été évaluées sur les différentes lignées cellulaires et comparées avec celle obtenues pour le cisplatine (Tableau 4).

Composé	PA1	MCF7	A549	Fibroblaste
(1)	6,7	27,0	>50	>50
cisplatine	0,4	16,5	5,6	23,9

Tableau 4. Résultats des IC_{50} (μM) obtenus pour le composé 1 et le cisplatine sur différentes lignées cellulaires.¹⁶³

Le complexe neutre (**1**) présente une cytotoxicité notable vis-à-vis des cellules du cancer du sein MCF7 et comparable à celle du cisplatine. Il faut noter également que le complexe reste inactif vis-à-vis de la lignée saine (fibroblaste), ce qui est un point favorable pour des tests thérapeutiques *in vivo*.

La première partie de mon travail de thèse s'inscrit dans la continuité de ce projet. Nous nous sommes proposé de synthétiser de nouveaux complexes mono- et binucléaires afin de mettre en évidence leurs interactions avec l'ADN. Comme présenté dans la partie bibliographique, l'interaction des complexes de platine avec les bases de l'ADN est un élément clé du mécanisme d'action.

Dans le cadre de notre étude, le groupement R sera constitué d'un cycle aromatique uniquement ou comportera également d'un bras espaceur le reliant au triazole. Dans le cas de

ligands bis-triazole menant potentiellement à des complexes binucléaires, ce groupement R sera une chaîne aliphatique, qui comportera dans certains cas des fonctions ammonium afin d'améliorer la solubilité aqueuse (Figure 70).

Lors des premiers tests, le groupement X contenant un hétéroatome participant à la chélation du platine était, soit une fonction amine, soit un groupement carboxylate. En accord avec les résultats probant obtenus avec le complexe (1), notre stratégie a consisté à privilégier les ligands azotés. En effet, les complexes de platine possédant des ligands azotés ont une cytotoxicité supérieure par rapport aux complexes *N,O*.¹⁶⁸

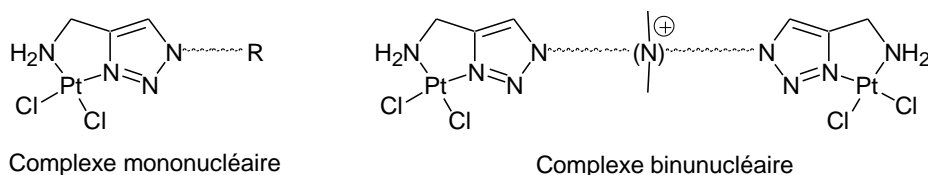


Figure 70. Structures générales des complexes mono- et binucléaires envisagés

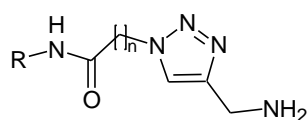
Nous nous sommes fixés comme but d'utiliser exclusivement des réactions *simples et efficaces ne nécessitant pas d'étape de purification chromatographique*. Ceci peut représenter un réel défi pour un travail académique, mais serait un réel atout de poids au cas où les applications de certains composés justifieraient des synthèses à grande échelle. De plus, nous essayerons de réaliser le maximum de nos réactions dans des solvants écocompatibles ou bénins.

II.2. Synthèses des ligands bidentes comportant un cycle 1,2,3-triazole

Nous avons envisagé de réaliser différentes séries de composés de type mono-triazole afin de moduler potentiellement la réactivité de leurs complexes de platine avec l'ADN. Tout d'abord, nous avons entrepris la synthèse d'une série de composés avec une chaîne amide fonctionnalisée par un groupement aromatique. Ensuite, nous avons envisagé d'obtenir des amines secondaires, puis tertiaires, pour évaluer les changements de réactivité avec l'ADN.

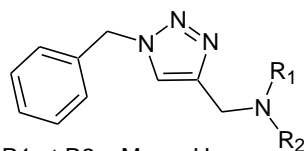
Nous rapportons également la synthèse d'un ligand triazole tridentate menant potentiellement à un complexe chargé où l'atome de platine est chélaté par l'azote *N*-2 du triazole et deux amines exocycliques substituées en position C-4. Ce ligand servira de modèle pour les études concernant les complexes bimétalliques formés par des ligands bis-triazoles tridentes.

Enfin, un ligand triazole inversé, récemment introduit par Kosmrlj¹⁶⁹ a été synthétisé pour évaluer la réactivité de ce type de complexe avec l'ADN (Figure 71).



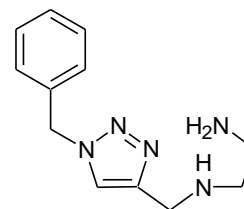
R = cycle aromatique

Ligands triazole avec une chaîne amide

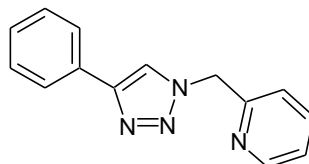


R1 et R2 = Me ou H

Ligands triazole avec modifications de l'amine



Ligand triazole tridente



Ligand triazole 'inverse'

Figure 71. Structures des différents ligands bidentes comportant un cycle 1,2,3-triazole envisagés.

II.2.1 Synthèses des ligands triazoles avec une chaîne amide

La synthèse d'une première série de triazoles fonctionnalisés en positions C-4 par une amine et en N-1 par une chaîne amide servant d'espaceur entre l'aryle R et le cycle azoté a été entreprise. Le cycle aromatique apporte un intérêt supplémentaire, car il est susceptible de s'insérer entre les bases nucléiques de l'ADN. La chaîne aliphatique devrait donner une meilleure flexibilité à la structure tout en permettant de mieux diriger la partie platinée vers les azotes N-7 des guanines au sein de la double hélice d'ADN.

Le schéma rétrosynthétique est présenté ci-dessous.

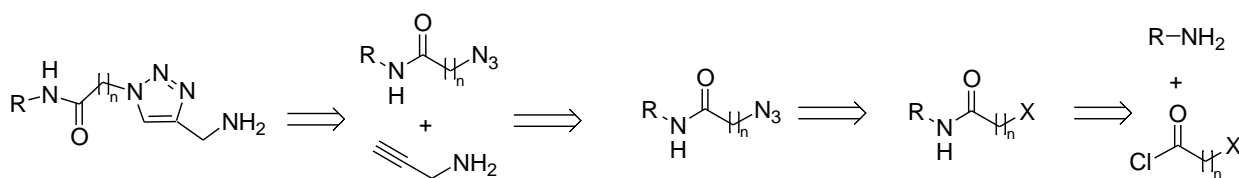


Schéma 6. Rétrosynthèse des ligands de type 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués avec une chaîne amide.

Le triazole est évidemment obtenu par réaction CuAAC entre la propargylamine et un azoture porté un amide. La fonction azoture est introduite par substitution nucléophile d'un hallogénure d'alkyle. L'amide de départ est obtenu par acylation d'une amine.

II.2.1.a Acylation d'amine : formation des chaînes amides

Dans un premier temps, nous avons utilisé la méthode classique d'addition d'un chlorure d'acide sur l'amine désirée en présence d'une base pour obtenir notre amide de départ.

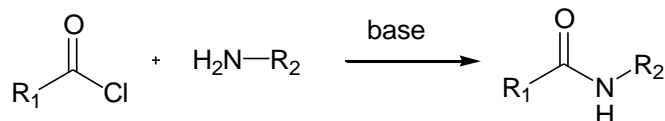
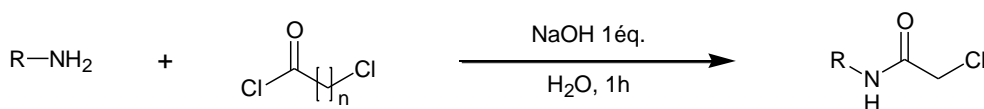


Schéma 7. Réaction d'acylation d'amine primaire

Des premiers essais ont été réalisés par réaction de l'aniline avec le chlorure de chloroacétyle en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane. Ces conditions ne se sont pas révélées totalement satisfaisantes par rapport à notre stratégie de synthèse puisqu'une étape de purification par colonne chromatographique était nécessaire.

Pour rester dans l'esprit de la chimie click, nous avons recherché des conditions réactionnelles permettant d'obtenir des produits purs avec de hauts rendements, sans purification chromatographique. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à la méthode d'acylation de Schotten-Baumann. Cette réaction est effectuée en milieux aqueux avec une solution diluée d'hydroxyde de sodium dont le rôle est de neutraliser l'acide formé (l'amine est suffisamment nucléophile pour que la réaction concurrente d'hydrolyse du chlorure d'acide soit négligeable).

Dans un premier temps nous avons décidé de mener à bien cette réaction uniquement dans l'eau. Ces essais n'ont pas été concluants, ces conditions aboutissant à des rendements faibles allant de 20 à 40 % (Figure 72).



Produits obtenus

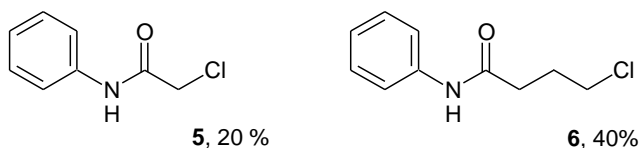
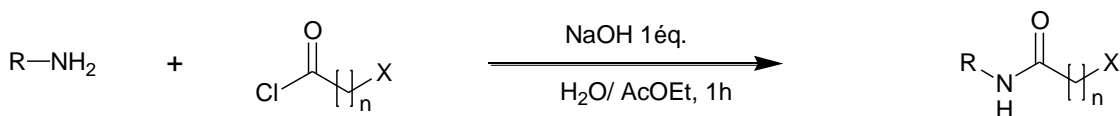


Figure 72. Essais d'acylation d'amine par méthode de Schotten-Baumann dans l'eau.

Par la suite, des essais de réactions dans les conditions biphasiques H₂O/acétate d'éthyle (1/1, v/v) ont été menés. Ces nouvelles conditions nous ont permis de synthétiser les amides

attendus avec de bons rendements (Figure 73). De plus, les produits finaux sont directement récupérés dans la phase organique et sont isolés avec une pureté satisfaisante, par simple évaporation du solvant.



Produits obtenus

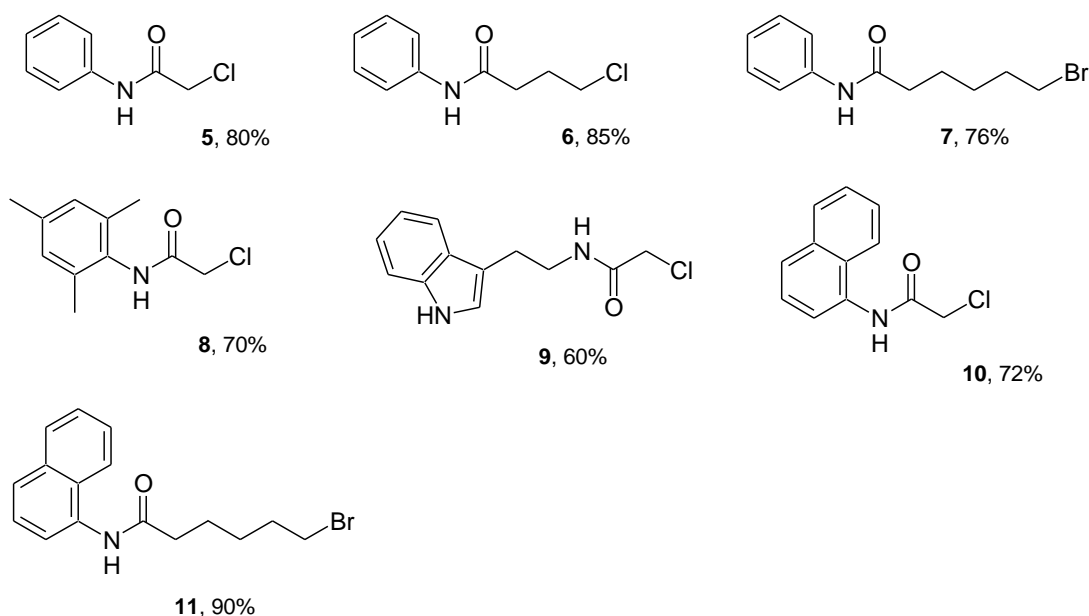


Figure 73 . Réaction d'acylation dans les conditions de Schotten-Baumann (système biphasique).

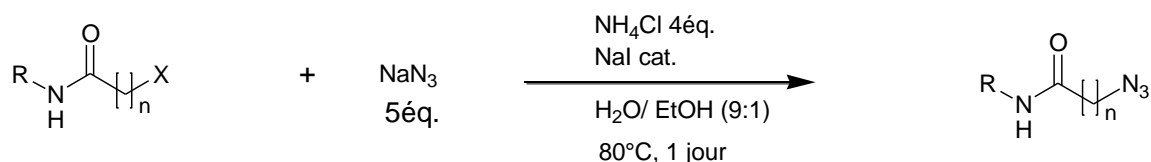
Dans ces nouvelles conditions, nous obtenons une bonne diversité de produits avec de bons rendements allant de 60 à 90 %.

II.2.1.b Synthèse des précurseurs azotures

Les azotures organiques sont préparés selon différentes méthodes que l'on retrouve dans une revue par Bräse et collaborateurs qui récapitule les principales voies de synthèse.¹⁷⁰

Nous avons décidé d'utiliser la substitution nucléophile des halogénures d'alkyle par l'azoture de sodium (NaN_3), ce qui est une méthode couramment employée en raison de sa grande versatilité, de son efficacité et du fait qu'elle peut avoir lieu dans de nombreux solvants organiques (DMF, DMSO, alcools...), mais également dans l'eau.

Les azotures **12** à **17** ont été synthétisés au départ des différents halogénures obtenus dans l'étape précédente, d'après une procédure adaptée de la littérature.¹¹⁹ La substitution nucléophile des halogènes par l'ion azoture est réalisée en milieu aqueux en présence de chlorure d'ammonium et d'une quantité catalytique d'iodure de sodium à 80°C (Figure 74). Il faut préciser que l'utilisation d'une petite quantité de NaI est nécessaire pour que la réaction puisse aller jusqu'à une conversion totale en azoture. Les chlorures de départ étant insolubles dans l'eau, nos conditions réactionnelles peuvent être qualifiées de *on water*.^{171, 172}



Produits obtenus

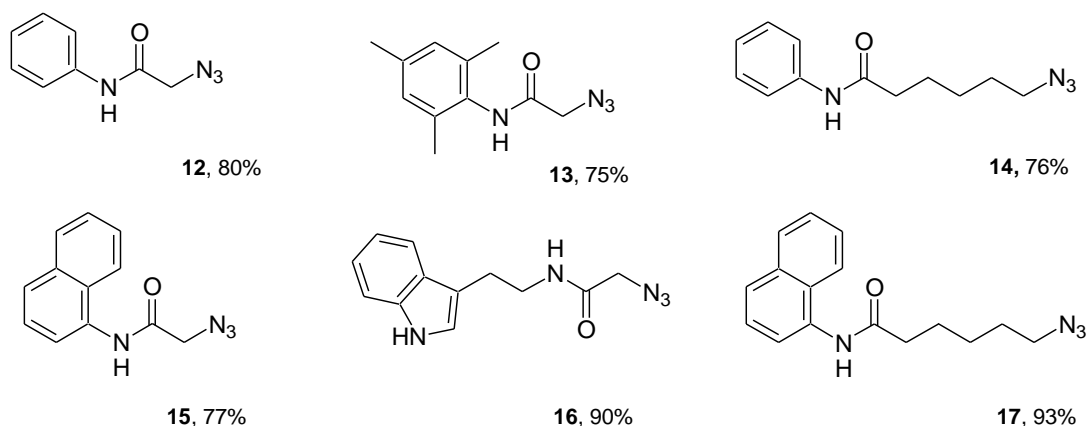


Figure 74 . Réaction de substitution nucléophile par l'azoture sur les amides chlorés.

Une simple extraction suffit à purifier les produits qui sont tous obtenus avec des rendements supérieurs à 75%, sauf dans le cas du substrat halogéné **6**, pour lequel les conditions réactionnelles présentées ci-dessus aboutissent à un mélange de produits indéterminés (analyse RMN ¹H).

II.2.1.c Synthèse des triazoles

La série de ligands bidentes triazole-amine (fonctionnalisation en position C-4) a été synthétisée par cycloaddition CuAAC entre la propargylamine commerciale et l'ensemble des azotures préparés précédemment. Une solution 0,1 M de sulfate de cuivre avec le ligand hydrosoluble THPTA a ensuite été ajoutée au mélange pour obtenir une charge en catalyseur de 1 mol %. Enfin une solution d'acide ascorbique 0,1 M (3 mol %) a été introduite pour

réduire le cuivre(II) en cuivre(I). Les composés désirés ont été isolés du milieu réactionnel sous forme de chlorhydrate par simple filtration, après ajout de HCl (Figure 75). La formation du chlorhydrate permet de purifier les ligands.

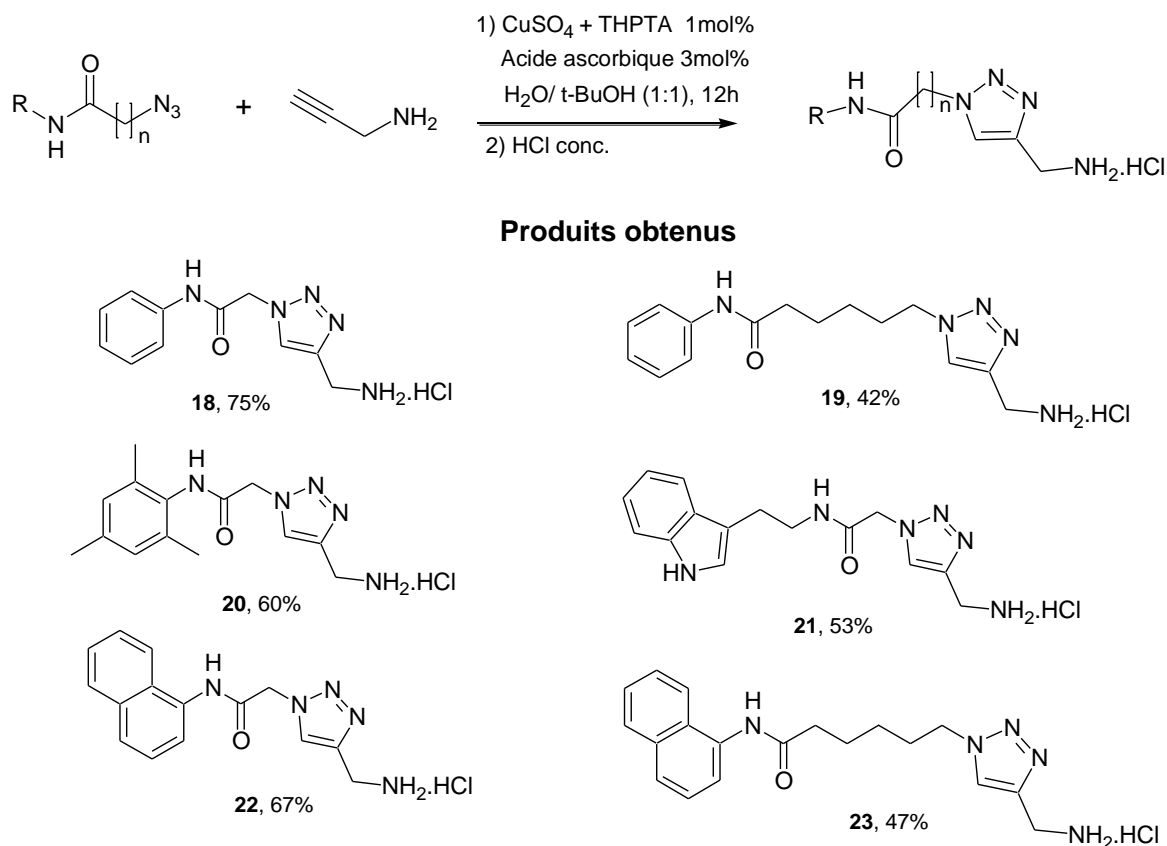


Figure 75 . Etape de CuAAC pour la construction du cycle 1,2,3-triazole.

La méthode de catalyse utilisée ici est efficace : la réaction est rapide et ne nécessite qu'une petite quantité de catalyseur (1 mol %). Les différents triazoles de **18** à **23** sont obtenus avec des rendements allant de 42 % à 75 %.

Pour cette étape de cycloaddition nous avons aussi utilisé un autre catalyseur développé et mis au point par l'équipe (Figure 76).¹⁷³ Ce catalyseur est issu de la combinaison d'un cuivre(I)-NHC, le [CuCl(SIMes)] mis au point par l'équipe de Nolan¹⁴² et d'un ligand azoté aromatique bidenté, la 4,7-dichloro-1,10-phénanthroline pour donner le complexe [CuCl(SIMes)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)]. Cette combinaison permet d'améliorer le système catalytique, entre autres du point de vue de la solubilité dans les solvants alcooliques. Les applications et les études concernant ce catalyseur seront présentées dans le chapitre V.

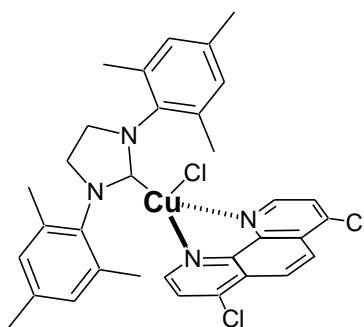
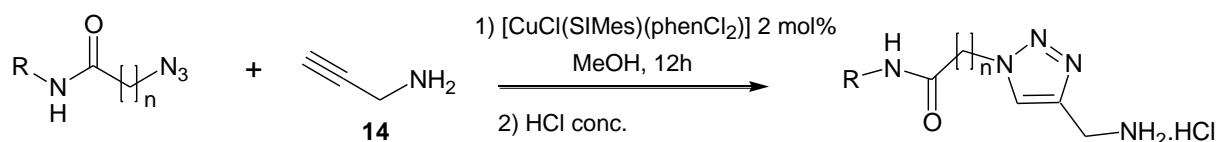


Figure 76 : Structure du catalyseur [CuCl(SIMes)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)]

Les triazoles **18-20** et **22** ont été synthétisés dans le méthanol. Le catalyseur [CuCl(SIMes)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)] (2 mol %) a été ajouté sous forme solide au mélange de réactionnel, dans lequel il est soluble. Les molécules désirées ont été isolées selon le même protocole que précédemment par simple filtration avec des rendements allant de 80 à 83 % (Figure 77).



Composés	Rendements
18	80 %
19	81 %
20	80 %
22	83 %

Figure 77 : Etape de CuAAC pour la construction du cycle 1,2,3-triazole utilisant la catalyseur [CuCl(SIMes)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)].

Pour les composés **18-20** et **22**, les rendements des réactions réalisées avec le catalyseur [CuCl(SIMes)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)] sont supérieurs à ceux obtenus avec la méthode utilisant le système CuSO₄-THPTA.

La synthèse de ligands bidentes triazole-acide carboxylique (fonctionnalisation en position C-4) a été réalisée par la cycloaddition de l'acide propiolique commercial et les azotures **13**, **17** ou l'azoture de benzyle (Figure 78). La réaction a lieu dans un mélange eau/*tert*-butanol (1/1, v/v) en présence d'une solution de CuSO₄-THPTA (1 mol %) et d'acide ascorbique (3 mol %).

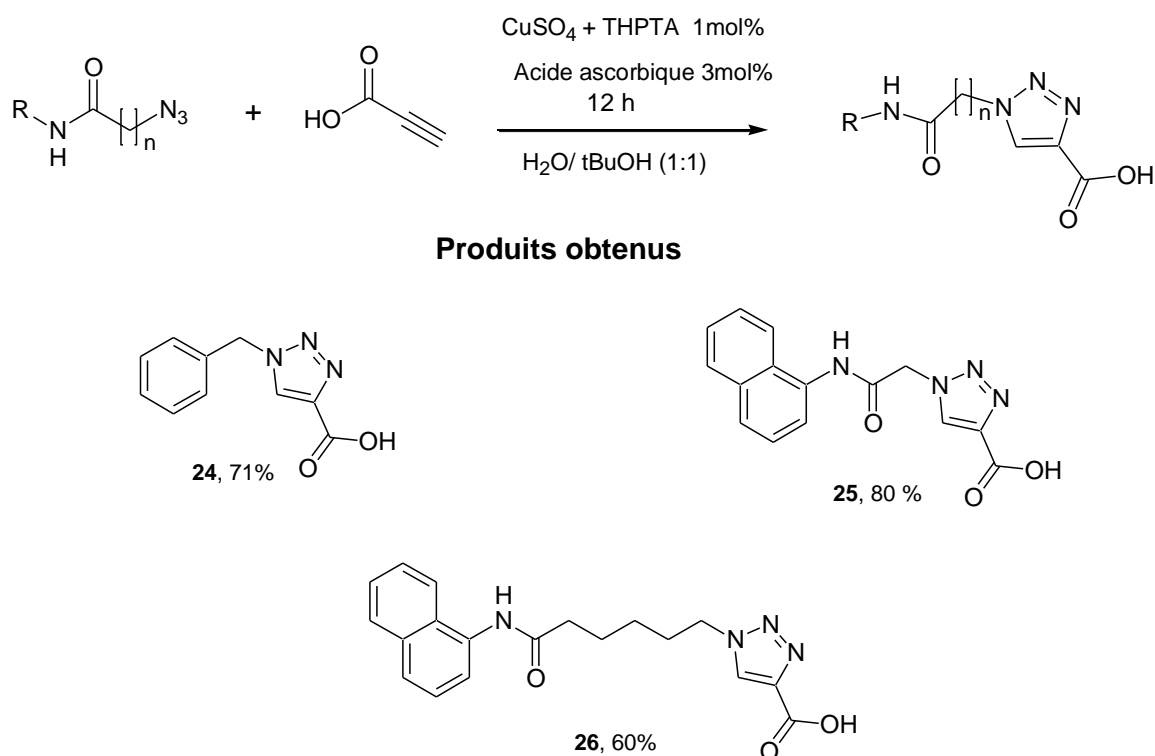


Figure 78. Etape de CuAAC pour la construction du cycle 1,2,3-triazole 1,4 disubstitué avec une fonction carboxylique en C4.

Les composés désirés sont obtenues avec de bons rendements et une pureté satisfaisante par simple filtration.

II.2.2 Synthèses des ligands triazoles avec une modification de la pince

Dans un premier temps nous avons varié la nature de l'amine participant à la chélation du métal en introduisant des amines secondaires et tertiaires. Par la suite, nous avons entrepris de synthétiser un ligand tridentate triazole-diamine, afin d'obtenir un complexe cationique de platine. Ce dernier devrait avoir une meilleure solubilité dans l'eau que les complexes neutres.

II.2.2.a Variation de l'amine participant à la chélation

Cette série de triazoles a été synthétisée par CuAAC entre l'azoture de benzyle **27** et différentes amines propargyliques commerciales, dans un mélange eau/*tert*-butanol (1/1, v/v) dans les conditions habituelles (CuSO₄.THPTA (1 mol %), acide ascorbique (3 mol %)). (Figure 79).

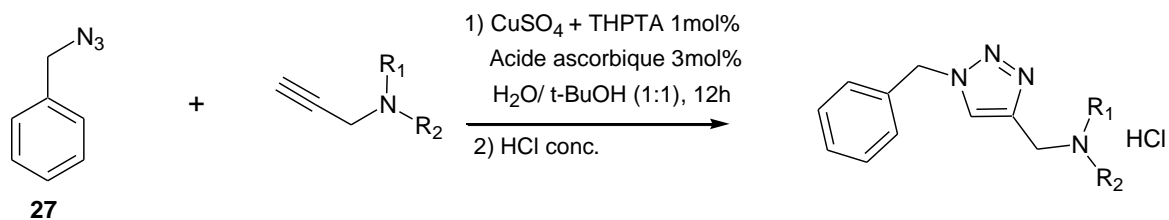
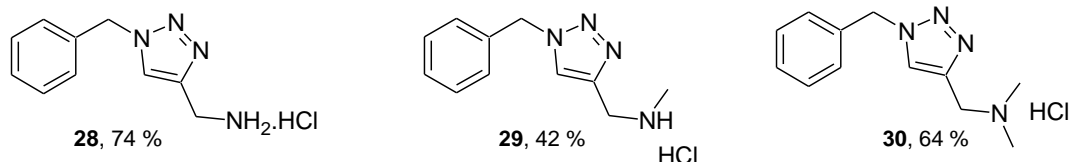
**Produits obtenus**

Figure 79. Etape de CuAAC pour la construction du cycle 1,2,3-triazole portant une fonction amine exocyclique primaire, secondaire ou tertiaire.

Les molécules désirées ont été isolées du milieu réactionnel sous forme de chlorhydrate par filtration avec des rendements acceptables et une pureté satisfaisante.

II.2.2.b Synthèse d'un ligand triazole tridentate

La synthèse d'un ligand triazole tridentate a été réalisée en deux étapes successives (Schéma 8).

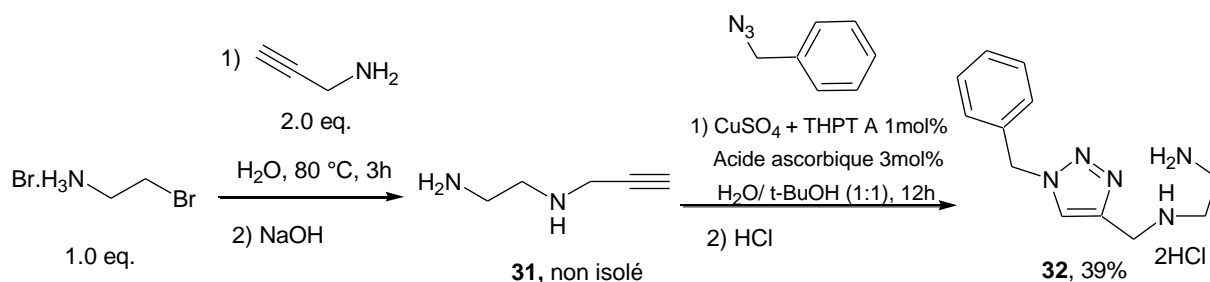


Schéma 8. Les étapes successives pour la synthèse du ligand 1,2,3-triazole tridentate.

La première étape consiste en la substitution du brome de la 2-bromoéthylamine par la propargylamine commerciale dans l'eau à 80°C. Malgré de nombreux essais, le produit **31** n'a pu être isolé pur du milieu réactionnel. En effet, ce composé se décompose rapidement en présence d'air comme le laisse supposer un noircissement après quelques minutes. De nombreux produits indéterminés sont détectés par RMN du proton. La formation d'un chlorhydrate s'est également révélée inefficace, un mélange étant toujours observé par RMN- ^1H . Enfin, il a été possible d'obtenir un sel précipitant en milieu aqueux et hydroalcoolique en additionnant de l'acide oxalique sur la diamine **31**. Malheureusement, le composé obtenu est totalement insoluble dans tous les solvants classiques de RMN, ce qui a empêché son analyse. Suite à ces problèmes nous avons opté pour l'utilisation en CuAAC du composé **31**

directement issu du brut réactionnel après élimination de l'excès de propargylamine sous pression réduite. La réaction de cycloaddition entre la diamine propargylique **31** et l'azoture de benzyle se déroule dans les conditions déjà présentées. Le triazole **32** est alors isolé du mélange réactionnel sous forme de chlorhydrate par filtration. Cependant la présence d'impuretés nous a amené à pratiquer une recristallisation dans l'éthanol pour obtenir le produit **32** pur. Le rendement global sur deux étapes n'est que de 39 % (néanmoins ceci représente 62 % par étape).

II.2.3 Synthèse d'un ligand triazole « inversé »

Nous avons réalisé la synthèse du ligand triazole **34** pour évaluer les propriétés d'un chélate inversé de platine vis-à-vis de l'ADN. De plus, l'étude de ce chélate nous servira de modèle pour des complexes inversés binucléaires. La synthèse de ce ligand a déjà été rapportée par le groupe d'Urankar et Kosmrlj, pionnier en synthèse de complexes inversés de platine.¹⁶⁹

La synthèse du précurseur azoture **33** a déjà été publiée.¹⁷⁴ La substitution de la 2-chlorométhylpyridine avec l'azoture de sodium est rapportée dans l'eau à reflux pendant 2 jours. Le produit est isolé par extraction et nécessite une étape de purification par chromatographie, le rendement final est de 54 %. Dans notre cas, nous avons préféré une méthode dans laquelle la substitution est réalisée dans le DMF en présence d'éther couronne (18-crown-6) et de la base de Hünig (diisopropyléthylamine : DIPEA ; Schéma 9).¹³² Le produit **33** est alors isolé par extraction avec un rendement de 80 % et ne nécessite pas d'étape de purification supplémentaire.

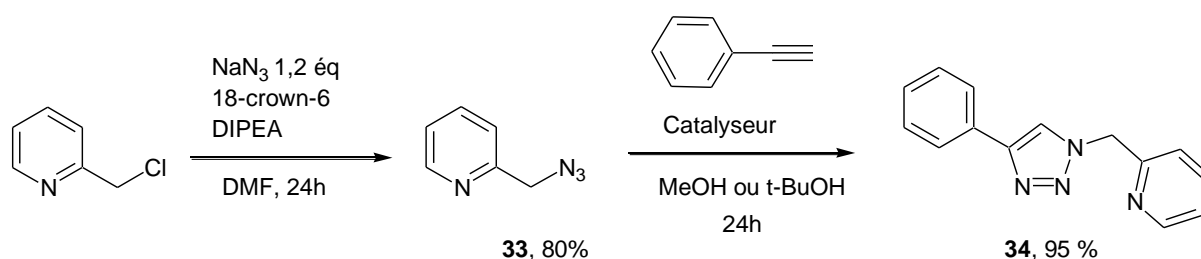


Schéma 9 . Les étapes successives pour la synthèse du ligand bidente triazole-pyridine inversé.

L'équipe de Zhu a rapporté la synthèse du ligand triazole **34** catalysée par différentes sources de cuivre(II) (CuCl_2 , CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$) dans différents solvants alcooliques (MeOH, EtOH, *tert*-BuOH).¹³² La méthode optimale nécessite 5 mol % d'acétate de cuivre(II) dans le *tert*-butanol. Le produit **34** est alors isolé par simple extraction avec un rendement supérieur à 95 %. Nous avons réalisé la réaction de cycloaddition dans les conditions optimales de Zhu, et

également en présence du catalyseur [CuCl(SiMe₃)(4,7-dichloro-1,10-phénanthroline)] dans le méthanol. Le produit **34** est isolé avec un rendement de 95 % quelque soit la méthode.

II.3. Synthèses des ligands bis -triazole

Différentes séries de ligands ont été envisagées afin de moduler potentiellement la réactivité du complexe avec l'ADN. La structure de nos ligands bis-triazole rappelle celle utilisée par Farrell, que nous avons décrite dans la partie bibliographique.

Tout d'abord, nous avons synthétisé des composés bis-triazole comportant une chaîne aliphatique à 4 ou 6 carbones reliant les deux hétérocycles. Ces ligands devraient nous mener à des complexes binucléaires neutres avec une coordination de type N_2Cl_2 . Par la suite, toujours en utilisant un simple pont aliphatique, nous avons entrepris de synthétiser un ligand bis-(triazole-diamine) bis-tridenté afin d'obtenir des complexes cationiques de type N_3Cl . Ensuite, nous avons essayé d'introduire un ammonium au centre de la chaîne aliphatique afin d'augmenter la solubilité aqueuse du complexe. Enfin, sur le modèle du ligand triazole inversé **34**, nous avons tenté d'obtenir un ligand bis-triazole inversé avec un pont aliphatique comportant deux ammoniums.

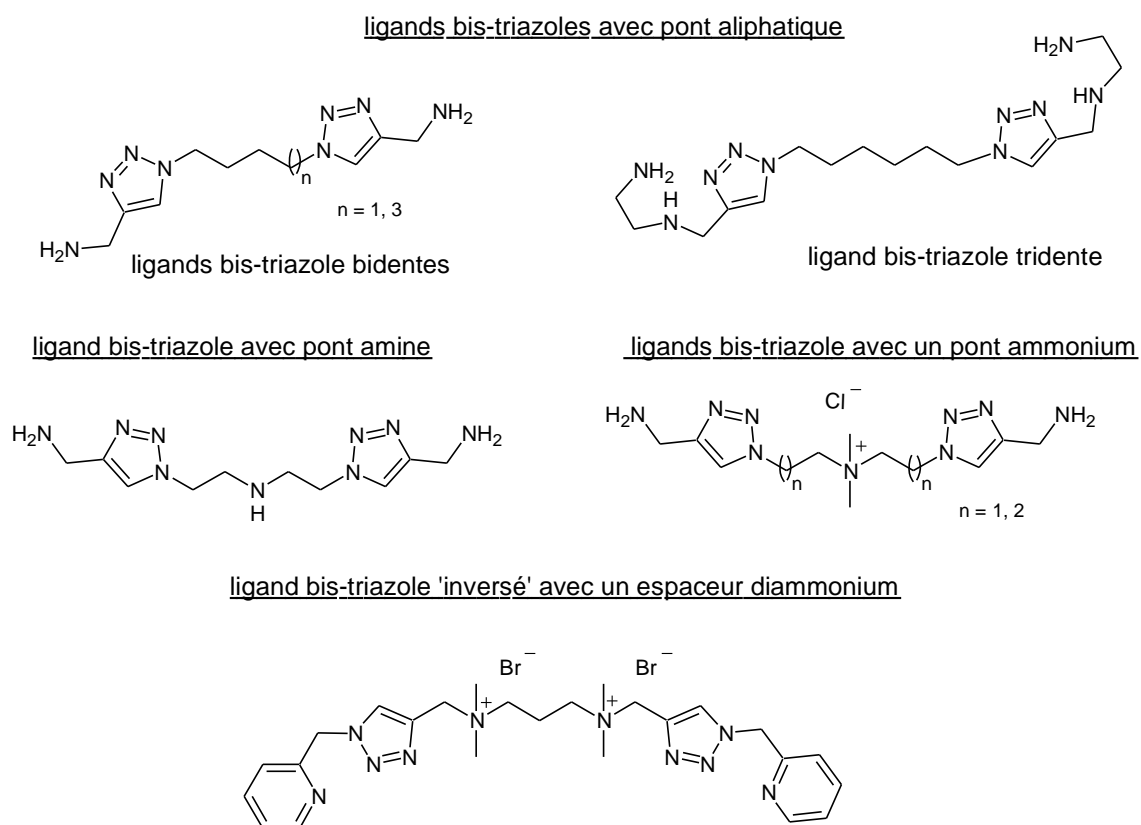


Figure 80 Structures des différents ligands bis-triazole envisagés.

II.3.1 Synthèses des ligands bis-triazoles possédant un pont aliphatique

Une méthode précédemment mise au point au laboratoire par Aurélie Maisoniai permet d'obtenir les précurseurs fonctionnalisés par deux azotures **35** et **36**. Cette méthode est basée sur la substitution des halogénures par l'azoture de sodium en présence de bromure de tétrabutylammonium et d'iodure de sodium dans le DMF. Nous avons remarqué que des rendements supérieurs peuvent être obtenus en remplaçant ce solvant par l'acétonitrile.

Les produits sont isolés purs par extraction (Schéma 10).

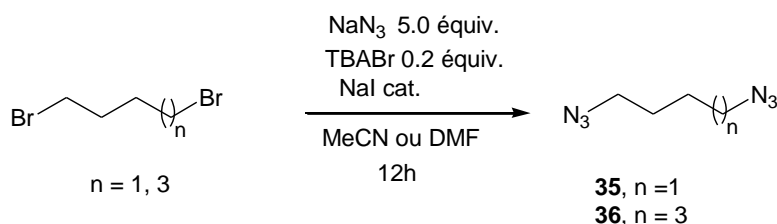


Schéma 10. Préparation des précurseurs diazotures à 4 et 6 carbones.

Le tableau 5 présente les rendements obtenus pour les bis-azotures **35** et **36** dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus.

	Solvants	
	DMF	Acétonitrile
Composé 35 , n = 1	44 %	91 %
Composé 36 , n = 3	68 %	77 %

Tableau 5. Rendements des réactions de substitution nucléophile par l'azoture des composés dihalogénés dans le DMF et l'acétonitrile pour obtenir les composés 35 et 36.

L'étape de cycloaddition entre les diazotures et la propargylamine se déroule dans les conditions habituelles. Les produits **37** et **38** sont isolés sous forme de chlorhydrates après ajout d'acide chlorhydrique concentré en fin de réaction, avec des rendements respectifs de 90 % et 94 %.

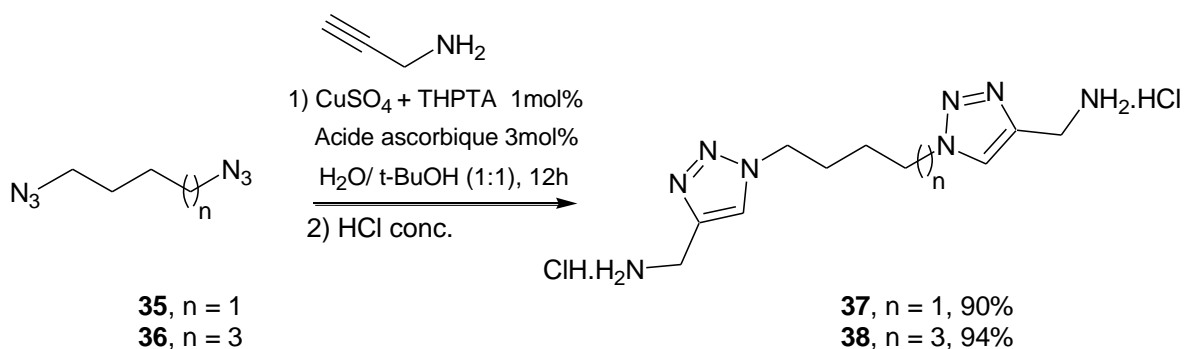
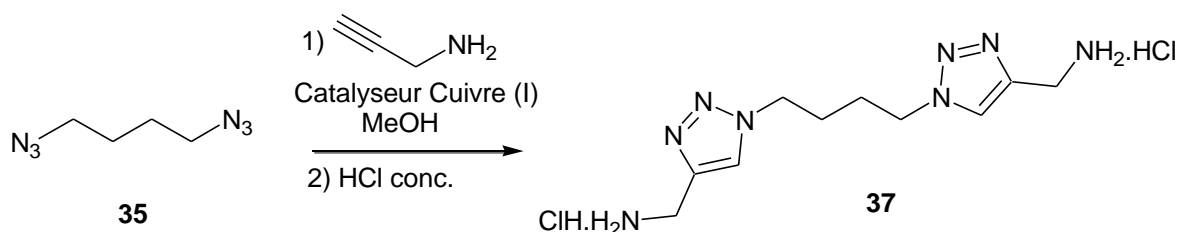


Schéma 11. Etape de cycloaddition entre composé diazotures et la propargylamine.

La réaction de cycloaddition entre le diazoture **35** a également été réalisée avec d'autres catalyseurs, les conditions réactionnelles sont présentées dans le tableau 6 ci-dessous.



	Catalyseur Cu(I) + ligand	Solvants	Rendements
a	$[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ (4 mol %)	méthanol	81 %
b	$[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ (4 mol %)	$\text{H}_2\text{O}/tert\text{-butanol}$ (1/2, v/v)	84 %
c	$[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ (4 mol %) + Phénanthroline (4 mol %)	méthanol	87 %
d	$[\text{CuCl}(\text{SIMes})(4,7\text{-dichloro-1,10-phénanthroline})]$ (4 mol %)	méthanol	89 %

Tableau 6. Différentes conditions catalytiques utilisés pour synthétiser le bis-triazole **37**.

Les différentes conditions réactionnelles testées ici nous ont permis d'obtenir le ligand bis-triazole **37** avec des rendements comparables à ceux obtenus en utilisant le couple $\text{CuSO}_4\text{-THPTA}$ (Schéma 11).

Afin d'obtenir un ligand bis-triazole bis-tridente nous avons fait réagir le diazoture **36** avec la diamine propargylique brute **31** (Schéma 8). La réaction CuAAC a lieu en présence du pré-catalyseur de cuivre(II)-THPTA (1 mol %) et d'acide ascorbique (3 mol %) dans un mélange eau/*tert*-butanol (1/1, v/v) (Schéma 12).

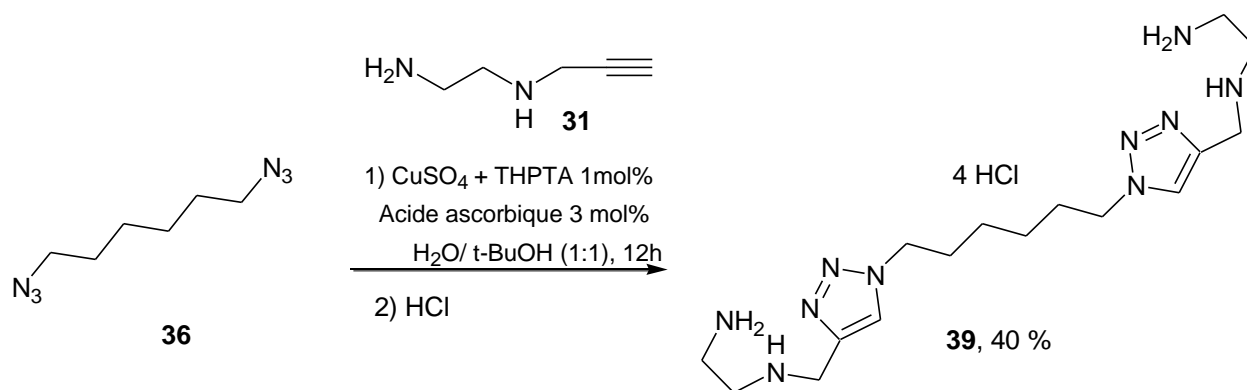


Schéma 12 . Synthèse du ligand bis-triazole bis-tridenté relié par un pont aliphatique.

Une purification par recristallisation du produit **39** dans le méthanol a été réalisée afin d'éliminer une petite proportion du produit **38**, formé par la cycloaddition d'une faible quantité de propargylamine toujours présente en mélange avec **31**. Le produit **39** est obtenu avec un rendement de 40 %.

II.3.2 Synthèse d'un ligand bis-triazole avec un pont aliphatique intégrant une amine

La synthèse d'un ligand bis-triazole possédant une amine centrale sur l'espaceur reliant les deux hétérocycles a été réalisée. La synthèse de ce composé est présentée dans le schéma 13. La disubstitution des chlores de la moutarde à l'azote **40** par l'azoture a été réalisée dans l'eau. Le diazoture **41** est isolé par extraction, les différents sels sont alors éliminés ainsi que l'excès d'azoture de sodium.

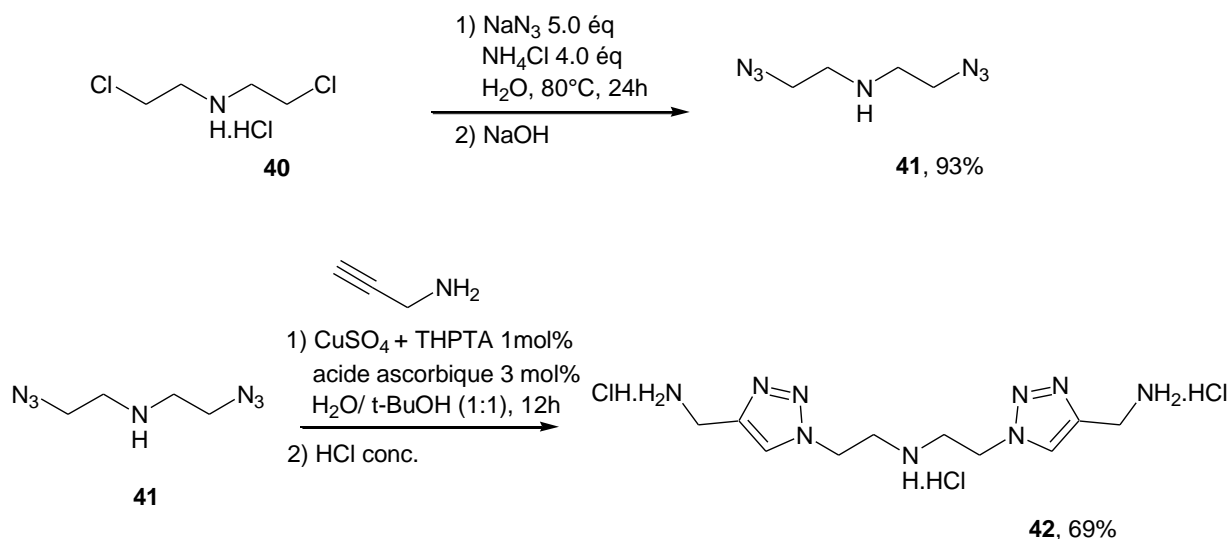


Schéma 13. Synthèse du ligand bis-triazole avec un pont aliphatique intégrant une amine.

L'étape de CuAAC entre le bis-azoture **41** et la propargylamine est réalisée dans les conditions habituelles. Après acidification, le ligand bis-triazole **42** est obtenu sous forme de chlorhydrate par filtration avec un rendement de 69 %.

II.3.3 Synthèses de ligands bis-triazole possédant un pont ammonium.

Pour la synthèse de ces ligands bis-triazoles, nous devons dans un premier temps obtenir un précurseur bis-azoture. Ce dernier est réalisé en 3 étapes successives qui sont présentées dans le schéma 14.

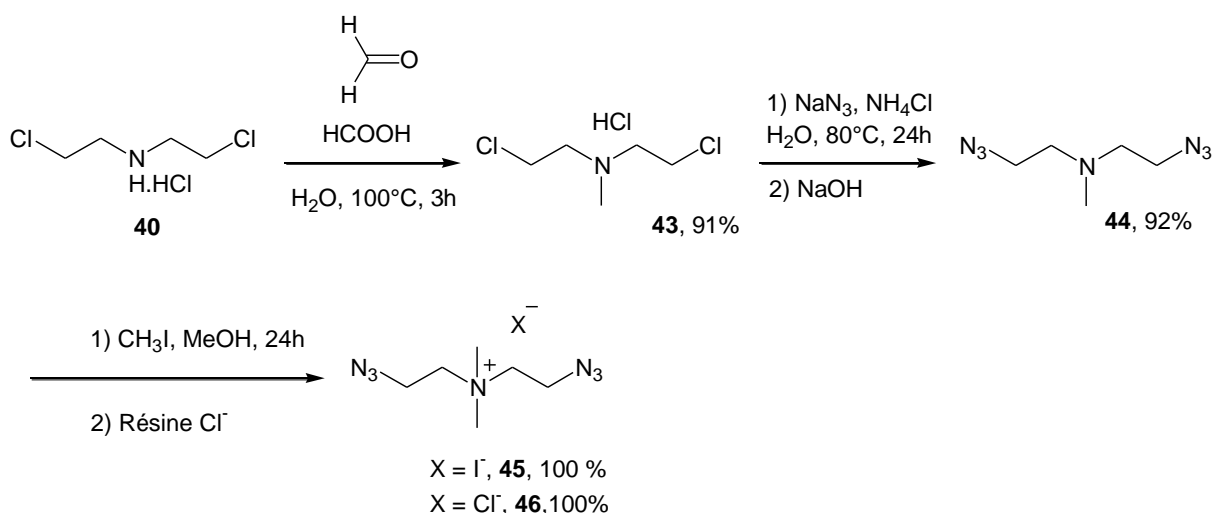


Schéma 14. Synthèse du précurseur bis-azoture possédant un pont à 5 chaînons centré sur un ammonium

Dans la première étape, la moutarde à l'azote **40** est méthylée par la méthode d'Eschweiler-Clarke pour fournir le produit **43** avec un rendement de 91 % après filtration.¹⁷⁵ La deuxième réaction consiste en la substitution nucléophile de l'espèce dihalogénée **43** avec l'azoture de sodium dans l'eau en présence de chlorure d'ammonium. Le produit **44**, obtenu avec un rendement de 92 % est isolé par extraction et ne nécessite pas de purification supplémentaire pour poursuivre la synthèse. La troisième étape consiste à former l'ammonium par l'action d'un excès d'iodure de méthyle. L'iodure d'ammonium intermédiaire **45** est obtenu après évaporation de l'excès de MeI puis l'iodure est échangé avec un chlorure en utilisant une résine échangeuse d'ion (Dowex Marathon Cl⁻) pour conduire au produit attendu **46** avec un rendement de 100 %. Enfin, Le bisazoture **46** est engagé dans une réaction de CuAAC avec la propargylamine (Schéma 15) dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v).

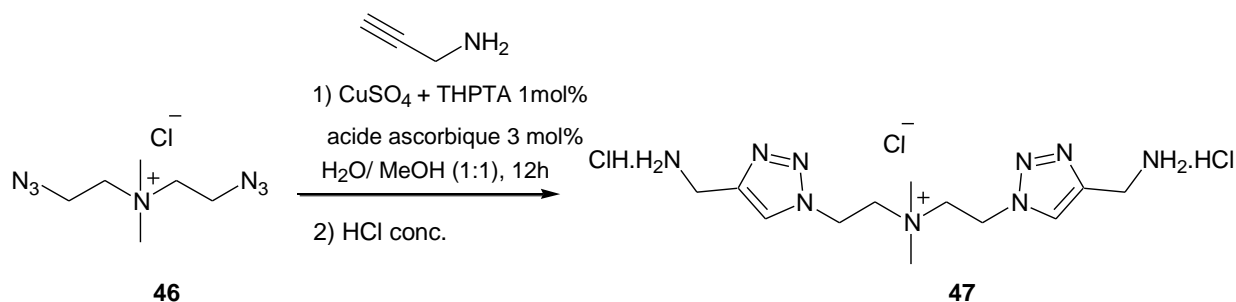


Schéma 15. Synthèse du ligand bis-triazole avec une chaîne ammonium à 5 chaînons.

En fin de réaction, l'addition d'acide chlorhydrique concentré permet de former le chlorhydrate du triazole **47**. Malheureusement, malgré des essais de précipitation dans différents solvants organiques (méthanol, éthanol, éther et acétone), nous ne sommes pas parvenus à isoler convenablement ce produit très hygroscopique par filtration. Le ligand est alors simplement récupéré après évaporation du solvant et est conservé tel quel.

Afin de synthétiser un ligand bis-triazole bis-tridente, le diazoture **46** est mis en réaction avec la diamine propargylique **31** dans un mélange eau/méthanol (1/1, v/v) (Schéma16).

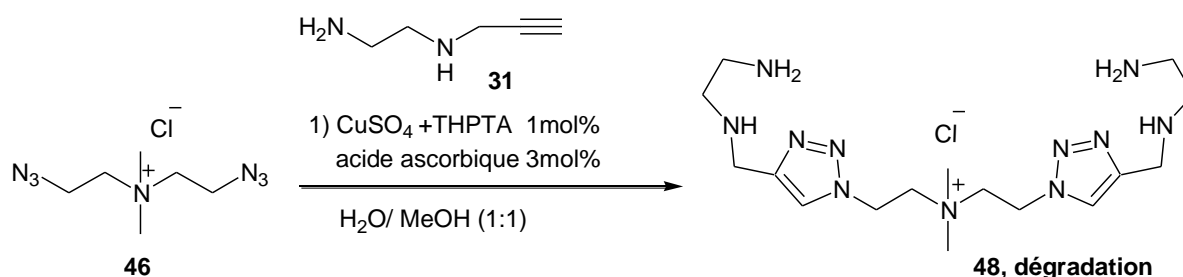


Schéma 16. Essai de synthèse du ligand bis-triazole bis-tridente avec une chaîne ammonium à 5 chaînons.

Malheureusement, en utilisant ces conditions réactionnelles nous n'avons pas obtenu le produit désiré **48**. Le pont ammonium à 5 chaînons ne paraît pas stable dans les conditions réactionnelles utilisées, en effet, une réaction indésirable a lieu lors de cet essai de synthèse. L'analyse RMN-¹H du brut réactionnel a été réalisée dans D₂O afin de déterminer la nature des produits formés. Sur le spectre, nous avons noté la présence de deux singulets à 8,30 et 8,12 ppm que nous pouvons attribuer aux protons H-5 de deux triazoles. D'autres parts, nous avons relevé la présence de 3 signaux à δ (ppm) : 7,51 (dd, J = 15.9 Hz, J = 8.8 Hz), 5,94 (dd, J = 15.9 Hz, J = 1.8 Hz) et 5,44 (dd, J = 8.8 Hz, J = 1.8 Hz) intégrant chacun pour un proton. Ces signaux sont caractéristiques de la présence d'une double liaison carbone-carbone

monosubstituée portée par l'un des produits d'arrivée.¹⁷⁶ A partir de ces observations, nous avons pu identifier le mécanisme de coupure qui a eu lieu lors de la réaction (Schéma 17).

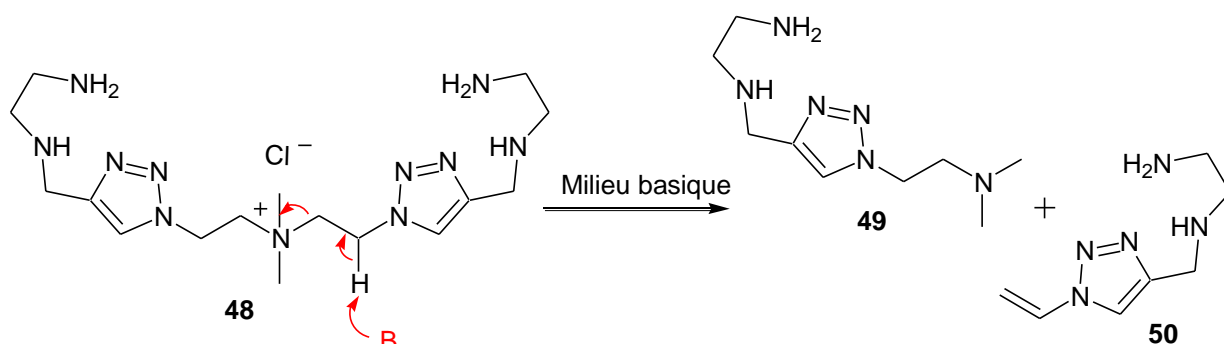


Schéma 17. Mécanisme de coupure du ligand bis-triazole bis-tridentate avec un pont ammonium.

Le caractère basique de la solution provoque l'élimination du proton en β de l'ammonium amenant à libération de l'amine tertiaire **49** et du *N*-vinyl-triazole **50**. Ce mécanisme d'élimination de type Hofmann a déjà été mentionné dans la littérature pour la synthèse de vinyl-tetrazoles.¹⁷⁷

Pour pallier ce problème nous avons pensé à éloigner les triazoles de l'ammonium. En effet, nous supposons que la présence d'un hétérocycle favorise la réaction d'élimination en augmentant l'acidité de l'hydrogène en β et/ou en stabilisant par conjugaison le produit vinylique formé. La moutarde à l'azote **52** n'étant pas commerciale, nous l'avons synthétisé en deux étapes à partir de l'aminopropanol et du 3-chloropropanol commerciaux (Schéma 18). La première étape consiste en l'addition du 3-aminopropanol sur le 3-chloropropanol dans l'eau à reflux d'après un mode opératoire décrit dans la littérature pour former l'aminodiol **51**.¹⁷⁸ Ce produit est purifié par distillation avec un rendement de 15 %.

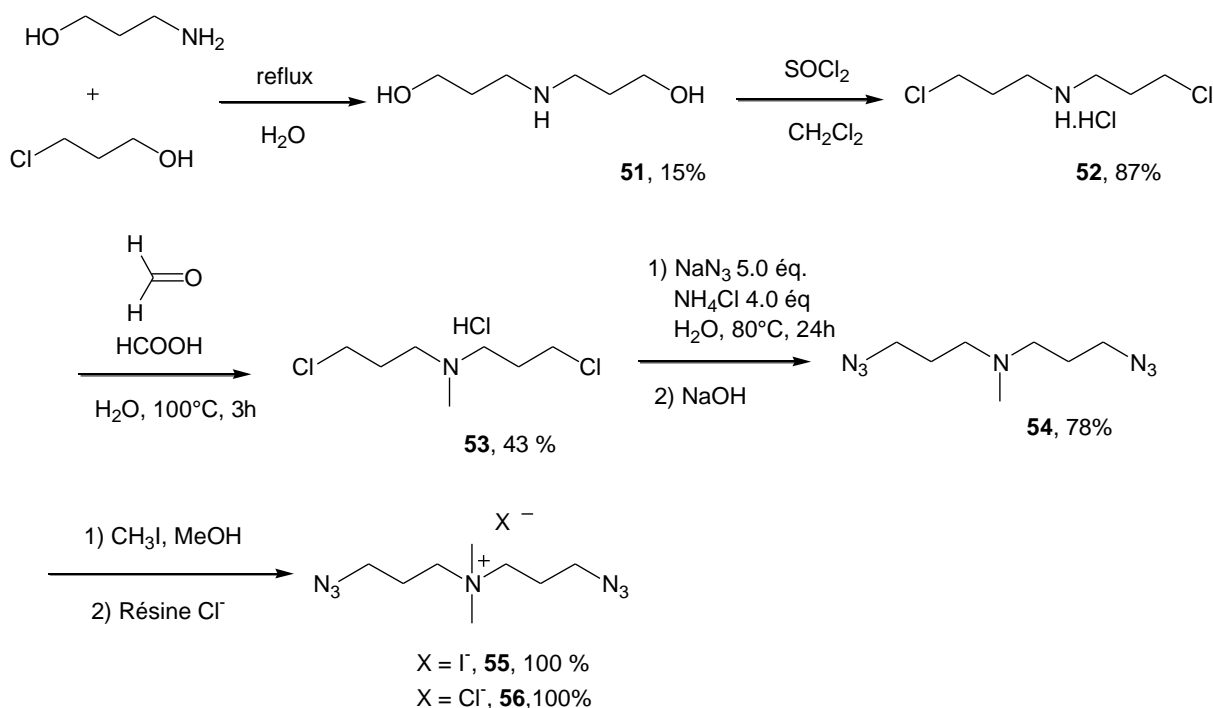


Schéma 18. Synthèse du précurseur double azoture ammonium avec une chaîne à 7 chaînons centrée sur un ammonium.

La chloration du diol **51** à l'aide de chlorure de thionyle dans le dichlorométhane est ensuite réalisée. La moutarde à azote **52** est isolée du milieu réactionnel par une simple extraction avec un rendement de 87 %. Le composé **52** est ensuite méthylée par la méthode d'Eschweiher-Clarke dans l'eau à reflux pour donner le produit **53** qui est isolé par simple filtration avec un rendement de 43 %. L'étape d'azoturation est réalisée dans l'eau en présence d'azoture de sodium et de chlorure d'ammonium. Le produit bis-azoture **54** est isolé par extraction avec un rendement de 78 %. La cinquième étape consiste à former l'ammonium par l'action d'un excès d'iodure de méthyle puis d'échanger les halogénures grâce à une résine. Le produit **56** est obtenu avec un rendement quantitatif.

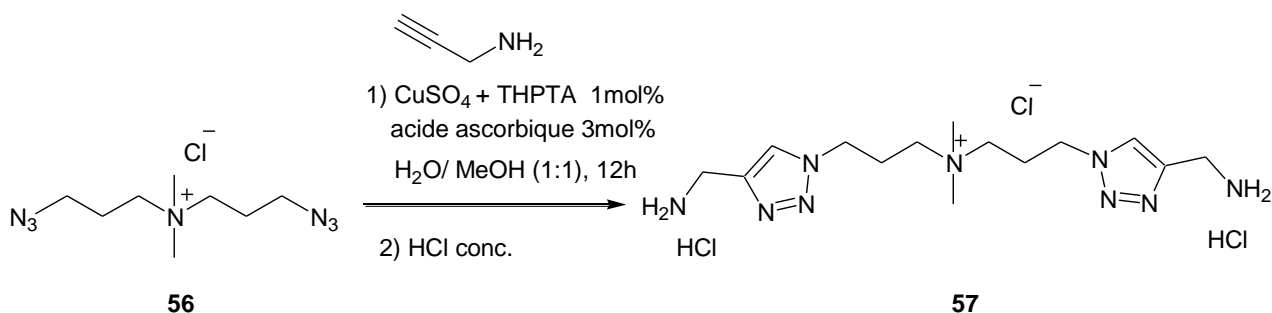


Schéma 19. Synthèse du ligand bis-triazole avec chaîne ammonium à 7 chaînons.

Le composé **56** est engagé dans une réaction de cycloaddition avec la propargylamine dans un mélange eau/*tert*-butanol (1/1, v/v) selon les conditions habituelles (Schéma 19). Comme dans le cas du composé **47**, le bis-triazole **57** est obtenu sous forme de chlorhydrate après acidification mais il s'est avéré très hygroscopique et donc difficilement récupérable par filtration : un rendement précis n'a donc pu être déterminé et le composé a été utilisé brut par la suite.

II.3.4 Synthèse d'un ligand bis-triazole inversé avec un pont diammonium.

Un ligand bis-triazole inversé a été synthétisé selon la méthode présentée dans le schéma 20. La première étape correspond en la préparation du précurseur dialcyne **60**. La substitution nucléophile du bromure de propargyle **59** par la diamine **58** commerciale est réalisée dans l'acétonitrile de 0°C à température ambiante sur une nuit. Le produit **60** est isolé par filtration avec un rendement de 60 %. Alternativement, l'utilisation de chlorure de propargyle mène à un produit extrêmement hygroscopique et par conséquent très difficilement filtrable. De ce fait, ce précurseur n'a pas été retenu pour poursuivre la synthèse.

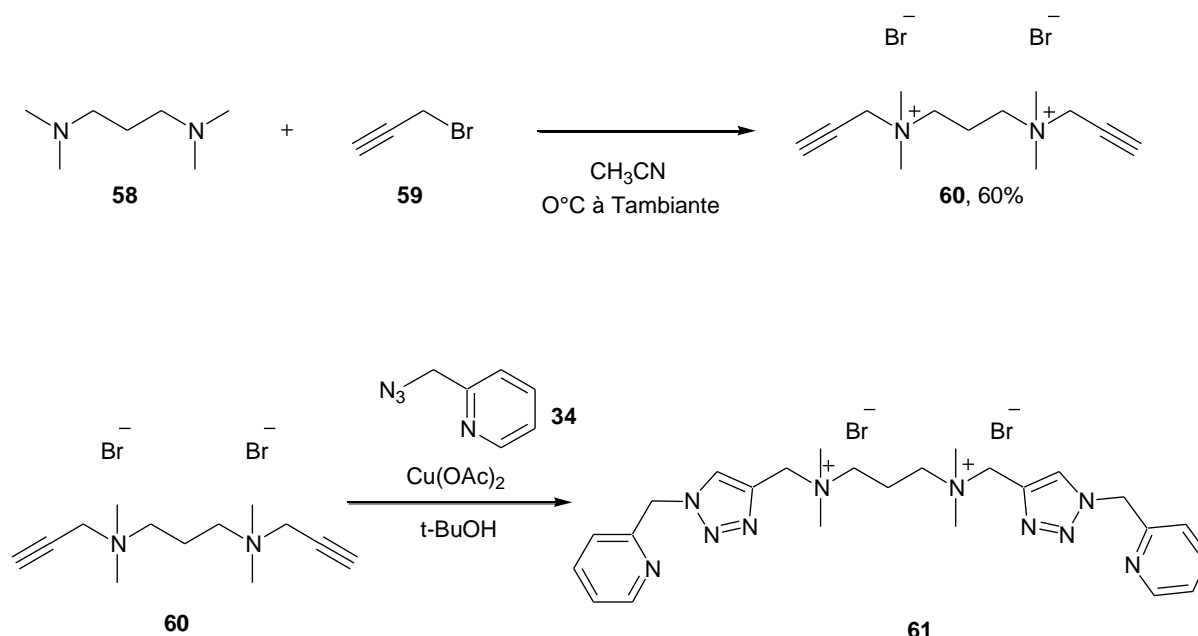


Schéma 20. Synthèse du ligand bis-triazole inversé avec une chaîne diammonium à 7 chaînons.

Nous avons obtenu le produit **61** selon la méthode de Zhu en utilisant l'acétate de cuivre(II) dans le *tert*-butanol. Malheureusement, le produit s'est montré extrêmement hygroscopique ce qui ne nous permet pas de rapporter de rendement de cette dernière étape.

II.4. Conclusion

Cette première partie nous a permis de démontrer la pertinence de la CuAAC comme outil pour la synthèse de triazole fonctionnalisés 1,4 disubstitués pour obtenir des familles de ligands potentiellement chélateurs du platine.

Hormis le ligand bis-triazole bis-tridenté avec le pont ammonium à 5 chaînons nous avons réalisé la quasi-totalité des ligands ciblés.

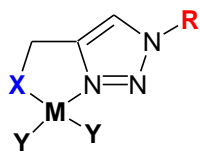
Au cours des différentes synthèses, nous avons réussi à suivre notre ligne directrice de départ, c'est-à-dire de mettre au point des conditions réactionnelles efficaces pour lesquelles les produits sont isolés par extraction et/ou filtration. Cependant, quelques difficultés ont été rencontrées pour l'isolation par filtration de certains chlorures des ligands cible présentant un caractère fortement hygroscopique.

Pour la deuxième partie de l'étude, les propriétés de coordination vis-à-vis du platine(II) de l'ensemble des ligands synthétisés seront considérées.

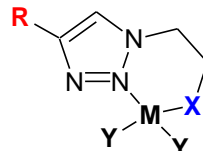
Chapitre III : Préparation de complexes de platine avec des ligands *1,2,3*-triazole.

III.1. Introduction

Les ligands dérivés de triazole envisagés ont été construits pour chélater le métal par un azote du triazole et une fonction exocyclique permettant de former des cycles à 5 ou 6 chaînons selon la nature du ligand (direct ou inversé).



Ligands directs



Ligands inversés

Les premiers tests de platination des ligands triazole bidentes ont été réalisés au laboratoire avec deux sources différentes de platine. Aurélie Maisoniai avait utilisé le trichloro(diméthylsulfoxyde-*S*)platinate(II) de potassium $K[PtCl_3(DMSO)]$ (ou sel de Kukushkin) et le tétrachloroplatinate(II) de potassium (K_2PtCl_4).

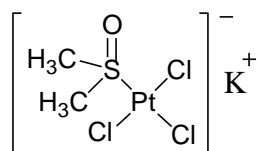


Figure 81. Trichloro(diméthylsulfoxyde-*S*)platinate(II) de potassium $K[PtCl_3(DMSO)]$.

L'utilisation de K_2PtCl_4 est plus propice pour l'obtention de complexes de platine biologiquement actifs. En effet, il est connu que la présence d'un ligand diméthylsulfoxyde sur le métal modifie l'activité cytotoxique.¹⁷⁹

Un mode opératoire commun à l'obtention de tous les complexes a été mis en place, le ligand (sous forme de chlorhydrate) et le sel de platine sont solubilisés séparément dans l'eau. Une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium est ajoutée à la solution contenant le ligand pour neutraliser le chlorhydrate. Cette solution est additionnée goutte-à-goutte sur celle contenant le sel de platine. Après des temps d'agitation variables, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les complexes de platines formés sont isolés par filtration. La figure 82 présente la complexation du ligand **28** par les différents sels de platine.

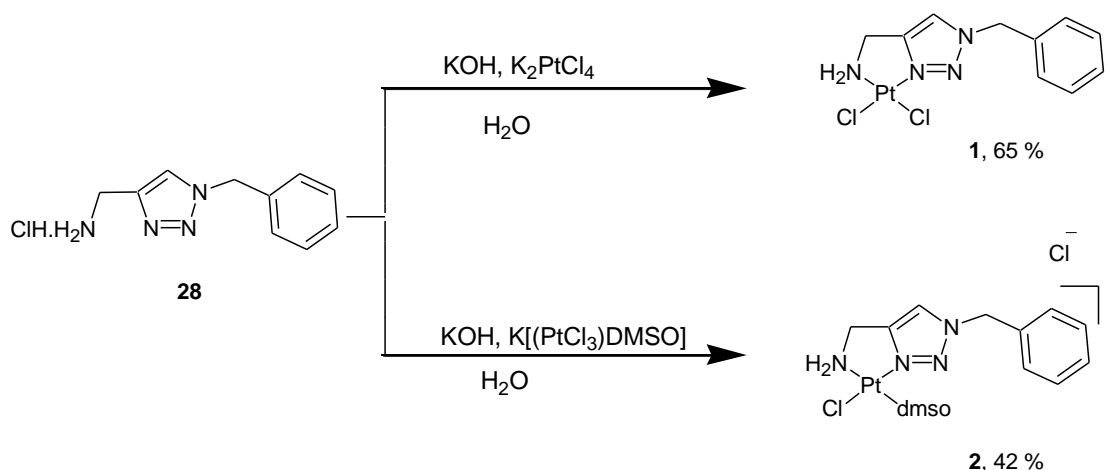


Figure 82. Synthèses des complexes de platine avec des ligands bidentes de type N,N .¹⁶³

La caractérisation de ces complexes à été réalisée par RMN- ^1H , ^{13}C et ^{195}Pt dans le DMF- d_7 . En ce qui concerne l'analyse par RMN ^{195}Pt , dans le cas du complexe **1**, le signal à -2143 ppm révèle une coordination de type N_2Cl_2 .¹⁸⁰ Un monocristal du complexe (**1**) a été obtenu par Aurélie Maisonial, en réalisant la diffusion d'éthanol dans une solution de DMF saturée en complexe. La structure a été élucidée par diffraction des rayons X (Figure 83).

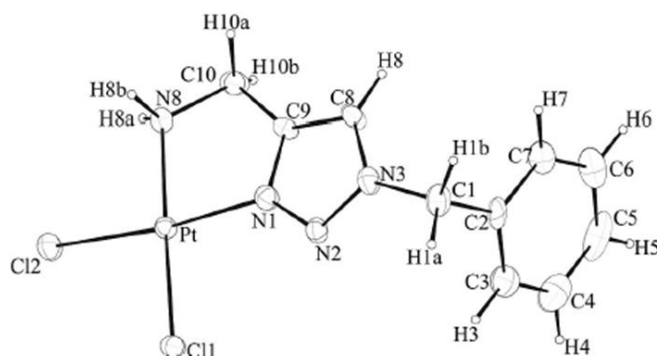


Figure 83. Diagramme ORTEP du complexe de platine (**1**).¹⁶³

Les complexes de platine envisagés dans le cadre de cette thèse seront des complexes neutres ou cationiques pour lesquels la coordination du métal sera de type N_2Cl_2 , N_3Cl ou N_4 . Pour cela, nous avons utilisé comme source de platine les sels K_2PtCl_4 , $\text{K}[\text{PtCl}_3\text{NH}_3]$ (trichloromonoammineplatinate(II) de potassium ou sel de Cossa ; Figure 84) et le cisplatine commercial.

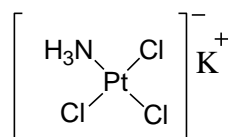


Figure 84. Trichloromonoammineplatinate(II) de potassium $\text{K}[\text{PtCl}_3\text{NH}_3]$.

La préparation du sel de Cossa est présentée dans le schéma 21.¹⁸¹ L'échange d'un ligand NH_3 du cisplatine par un chlorure est réalisé par l'action de l'acide chlorhydrique concentré au reflux de l'eau. Après refroidissement, les restes de cisplatine précipitent et sont éliminés par filtration. Le sel attendu **62** est obtenu après évaporation avec un rendement de 91 %. Enfin, l'échange du contre-ion ammonium par un potassium est réalisé par le passage sur résine Dowex 50 x 8 chargée en K^+ .

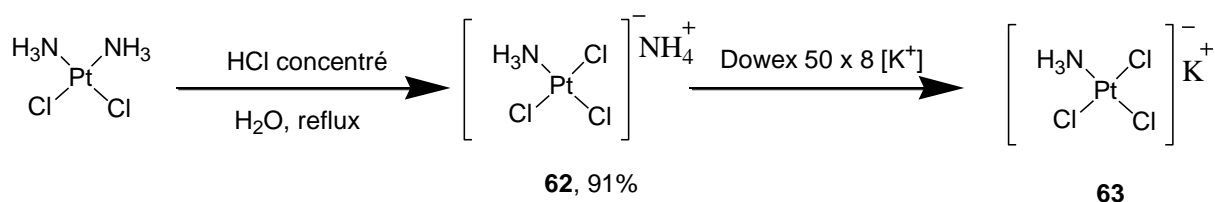


Schéma 21. Préparation du trichloromonoammineplatinate(II) de potassium.

La caractérisation des sels est réalisée par analyse infrarouge. Pour le sel **62**, on observe une bande caractéristique de l'ammonium à 1410 cm^{-1} (en comparaison avec le chlorure d'ammonium, bande à 1400 cm^{-1}) ; cette bande étant absente dans le cas du sel potassé **63**.

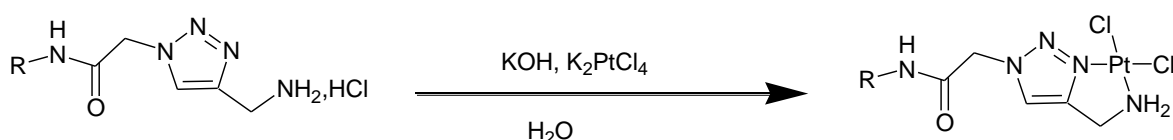
La coordination du platine par nos ligands en utilisant du sel de Cossa devrait nous permettre d'obtenir des complexes chargés de type N_3Cl ayant une meilleure solubilité et ne formant que des mono-adduits avec les bases de l'ADN. Cette stratégie a été envisagée essentiellement pour les complexes binucléaires de platine afin de permettre des pontages à longue distance.

Dans certains cas, nous avons aussi utilisé le cisplatine directement afin de former des complexes chargés avec une coordination de type N_4 dans le but d'obtenir des composés plus solubles dans l'eau que leurs analogues N_3Cl .

III.2. Préparation des complexes mononucléaire de platine

III.2.1 Complexes mononucléaires de platine avec les ligands triazole-amine portant une chaîne amide

Les complexes de cette série sont préparés selon le mode opératoire précédemment décrit en présence de K_2PtCl_4 et d'un équivalent de KOH. La réaction de complexation se déroule sur 24 heures et les produits **64** à **69** ont été isolés par filtration.



Produits attendus

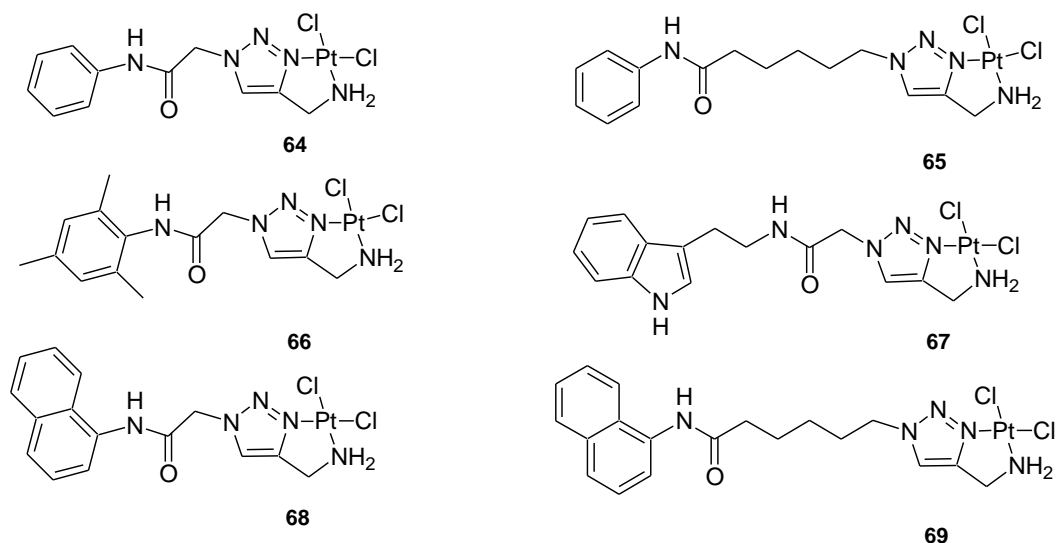


Figure 85. Complexation du platine par des ligands bidentes triazole-amine avec une chaîne amide.

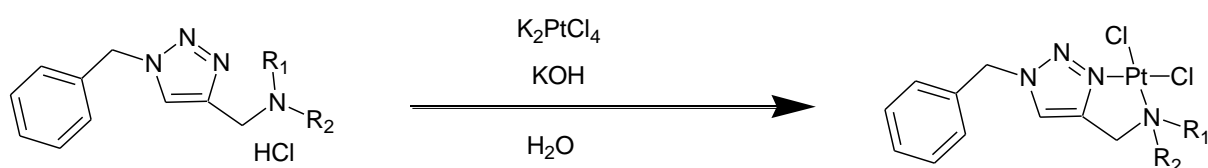
Les complexes de cette série sont insolubles dans l'eau et très peu solubles dans le DMF. Les spectres RMN- ^1H , réalisés dans le DMF- d_7 nous ont permis d'observer différent singulets correspondant au proton H-5 du triazole. La solubilité du complexe dans le DMSO- d_6 est plus importante. Dans ce solvant nous observons également la présence de plusieurs signaux du triazole, cependant nous n'avons pas pu déterminer si ceci est du à la présence de plusieurs produits ou d'une complexation du métal avec le solvant.

L'analyse des complexes par spectrométrie de masse n'a pas pu être validée, du fait d'une mauvaise ionisation des composés due à la présence de DMF. Cependant, nous observons pour chaque complexe un pic de masse majoritaire correspondant à une espèce PtL_2 dicationique ($m/z = M(\text{PtL}_2)/2$).

Pour la validation de cette série de complexe de platine, nous avons réalisé les analyses élémentaires. Les résultats obtenus nous montrent une trop forte teneur en éléments légers dosés (C, H, N). Ces résultats laissent penser, que nous sommes en présence de mélanges entre le complexe souhaité et un complexe de stœchiométrie 1 Pt pour 2 ligands. Nous ne pouvons donc conclure sur l'obtention des complexes attendus.

III.2.2 Complexes mononucléaire de platine avec des ligands triazole-amine alkylés

Les complexes de cette série ont été préparés au départ des chlorures et de K_2PtCl_4 en milieux aqueux basique. Les complexes sont isolés par filtration.



Produits attendus

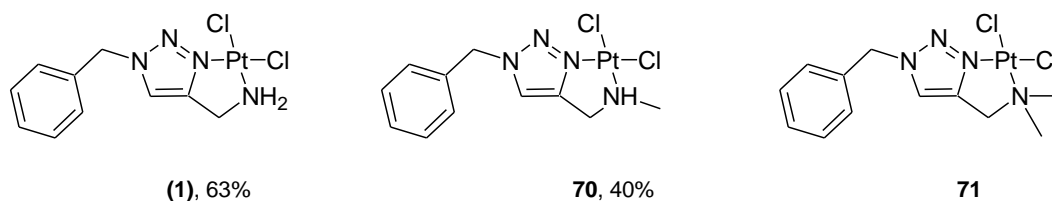


Figure 86. Complexation du platine par des ligands triazoles bidentes avec amine méthylée.

Les complexes **70** et **71** sont insolubles dans l'eau et peu solubles dans des solvants tels que le DMSO et le DMF. Ceci nous a malheureusement empêché d'utiliser la RMN pour les analyser. L'analyse HRMS révèle, de la même manière que précédemment, la présence d'un pic à $m/z = M(PtL_2)/2$. Nous avons par la suite réalisé les analyses élémentaires des complexes **70** et **71**. Alors que l'analyse de **70** est en accord avec la structure attendue, celle de **71** ne possède pas un accord suffisant entre les valeurs calculées et les valeurs expérimentales ($< 0,4\%$) pour conclure.

III.2.3 Complexes avec le ligand bidentate triazole-amine **28** et différentes sources métalliques.

Pour avoir des composés plus solubles que les précédents nous avons essayé d'obtenir des complexes cationiques. Pour cela, le ligand **28** a été complexé avec le cisplatine et le sel de Cossa. Les conditions expérimentales sont reportées sur les figures 87 et 88.

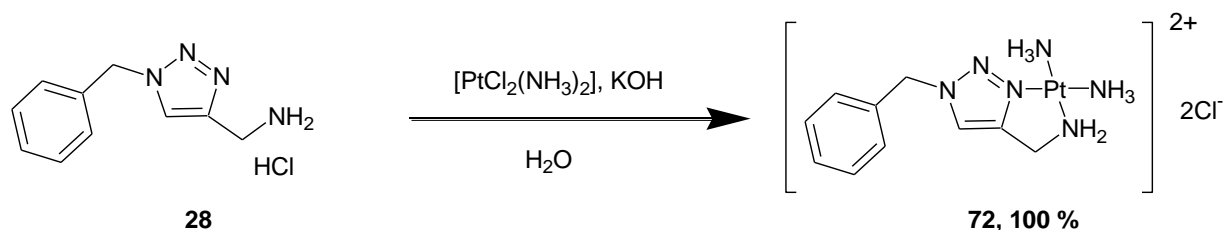


Figure 87. Métallation du ligand **28** par le cisplatine

Pour obtenir le complexe dicationique **72**, le ligand **28** a été mis en réaction avec le cisplatine dans l'eau pendant 3 à 4 jours à température ambiante. En fin de réaction, les traces de cisplatine n'ayant pas réagi sont éliminées par filtration et **72** est obtenu avec un rendement quantitatif. Le complexe peut être formé de la même manière en chauffant le mélange réactionnel pendant 5 heures à 40 °C.

Le complexe formé, chargé positivement, est soluble dans l'eau ce qui nous a permis de réaliser les analyses RMN ^1H , ^{13}C et spectrométrie de masse. Ces analyses ont permis de confirmer la formation de l'espèce mononucléaire PtL attendue.

Dans le cas de **73**, le ligand **28** a été mis en réaction avec le sel de Cossa dans l'eau. Un précipité blanc est obtenu après quelques heures. Le précipité est alors filtré et les eaux mères évaporées pour donner un solide jaune. Le précipité blanc, très peu soluble dans l'eau, a été analysé dans le DMSO-d_6 et le solide jaune dans D_2O . Dans les deux cas, nous avons observé la formation de multiples produits.

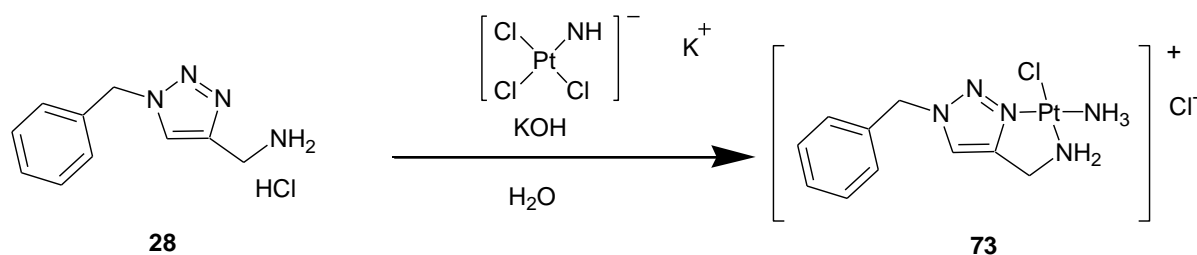


Figure 88. Métallation du ligand **28** par le sel de Cossa.

III.2.4 Complexe palladié avec le ligand 28.

Nous avons réussi à isoler un complexe de Pd(II) du ligand triazole **28**. Ce complexe, qui peut être considéré comme l'analogue palladié de **1**, sera utilisé pour des études comparatives avec la série platinée.

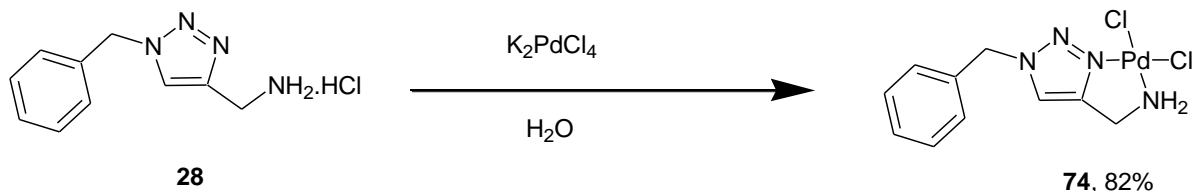


Figure 89. Complexation du palladium par le ligand 28.

Pour former le complexe palladié **74** il n'est pas nécessaire d'utiliser un équivalent de base pour libérer l'amine entrant en jeu dans la chélation du métal. En effet, celle-ci a lieu spontanément avec le ligand sous sa forme chlorhydratée.

La caractérisation de ce complexe a été réalisée par analyse RMN- 1H , ^{13}C dans le DMF- d_7 .

Un monocristal du complexe **74** a été obtenu par Aurélie Maisonial en réalisant la diffusion de l'éthanol dans une solution de DMF saturé en complexe à 35 °C Le cristal a pu être analysé par diffraction des rayons X (Figure 90) par Pascale Lemoine (Université ParisV).

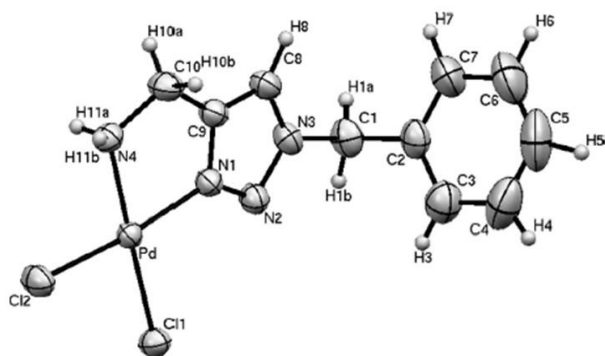


Figure 90. Diagramme ORTEP du complexe de palladium 74.

La structure met en évidence la formation, comme prévu, d'un métallacycle à 5 chaînons. Le tableau 7 présente les longueurs de liaisons ainsi que les valeurs des différents angles caractéristiques.

Distances [Å]			
N ¹ -Pd	2,000(2)	Cl ² -Pd	2,270(1)
N ⁴ -Pd	20,38(2)	H ⁸ -H ^{10a}	33,07(8)
Cl ¹ -Pd	2,302(1)	H ⁸ -H ^{10b}	3,30(3)
Angles [°]			
N ⁴ -Pd-Cl ²	90,35(5)	N ¹ -Pd-Cl ¹	95,96(5)
N ⁴ -Pd-Cl ¹	176,90(5)	N ¹ -Pd-Cl ²	171,94(5)
N ⁴ -Pd-N ¹	81,69(7)	Cl ¹ -Pd-Cl ²	92,06(2)

Tableau 7. Longueurs des liaisons et angles choisis pour le complexe palladium 74.

Comme son analogue platiné, le centre Pd(II) présente une géométrie de type plan carré. Une distorsion d'un angle de 2° entre les plans définis par les atomes N¹-Pt-N⁴ et Cl¹-Pd-Cl² est observée. Les diagonales de ce carré distordu ne sont pas équivalentes. En effet, la liaison N¹-Pd est plus courte que la liaison N⁴-Pd (2,000(2) et 2,038(2) Å respectivement) et la liaison Pt-Cl² est également plus courte que la liaison Pt-Cl¹ (2,270(1) et 2,302(1) respectivement). Les interactions avec l'ADN du complexe palladié **74** feront l'objet d'une étude comparative avec son complexe analogue de platine **1**.

III.2.5 Complexe mononucléaire de platine avec le ligand tridente triazole-diamine.

La synthèse du complexe platiné **75** a été réalisée selon les conditions standard basiques au départ du chlorhydrate du ligand **32**. Le complexe **75** est isolé par filtration avec un rendement de 57 %.

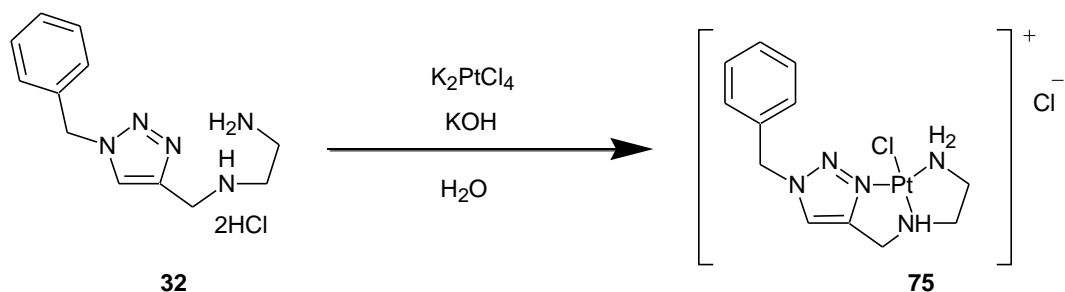


Figure 91. Complexation du platine par ligand triazole trident.

Si le spectre RMN- ^{195}Pt de **75** dans le DMF- d_7 révèle un pic unique à -2400 ppm correspondant effectivement à une coordination de type $N3Cl$, le spectre RMN- ^1H révèle la formation de deux produits. Puisque trois signaux correspondant aux H-5 des triazoles sont

observés, l'échantillon analysé pourrait être un mélange avec un second complexe de stoechiométrie 1 Pt : 2 ligands. Sachant que la coordination du platine est de type $N3Cl$, nous pensons avoir obtenu le complexe **75** en mélange avec **76**.

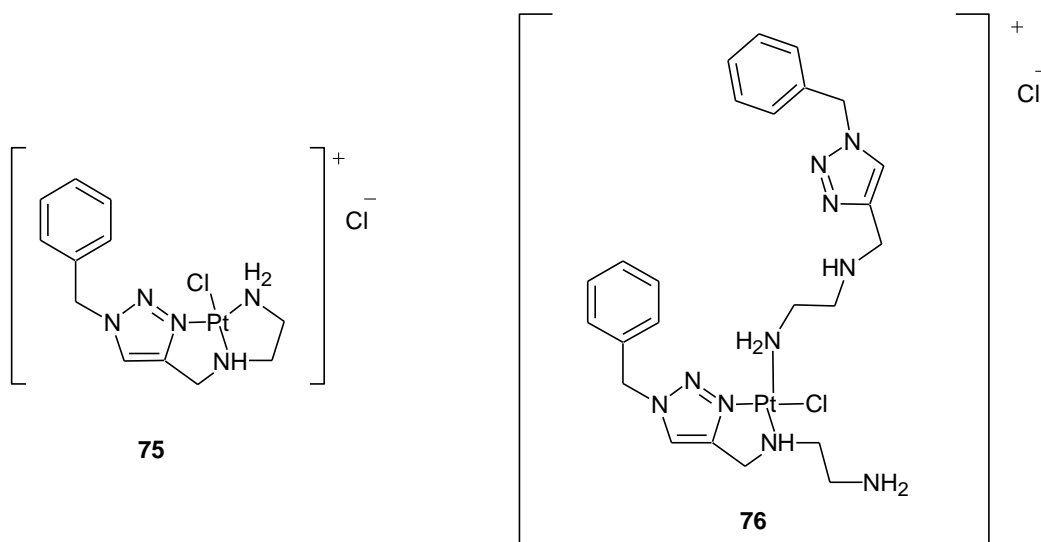


Figure 92. Proposition des complexes de platine de coordination $N3Cl$ formés

III.2.6 Complexe mononucléaire de platine avec le ligand triazole inversé.

La synthèse du complexe platiné **77** présentée en figure 93 est déjà rapportée dans la littérature.¹⁶⁹

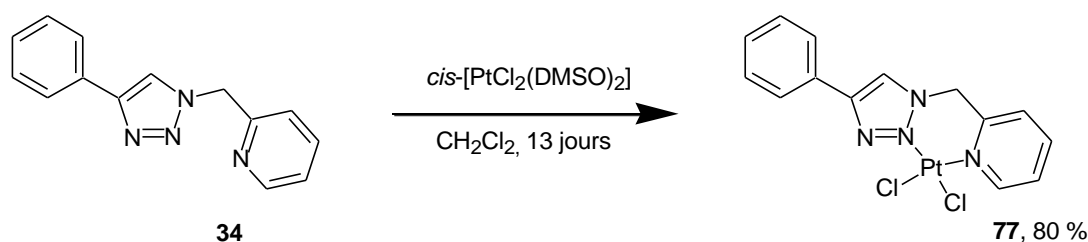


Figure 93. Complexation du platine par ligand triazole bidente inversé rapporté par Kosmrlj.¹⁶⁹

Pour des raisons d'homogénéité, nous avons préféré utiliser le protocole standard en faisant réagir le ligand **34** avec K_2PtCl_4 dans l'eau pendant 6 jours à l'obscurité. Le complexe est isolé par filtration avec un rendement de 50 %. La chélation du platine par un ligand 1,2,3-triazole inversé se fait beaucoup plus lentement que dans le cas d'un triazole direct (6 jours contre 1 jour). De plus, nous obtenons un rendement plus faible par rapport à celui rapporté par Kosmrlj lorsque K_2PtCl_4 est utilisé comme source de platine.

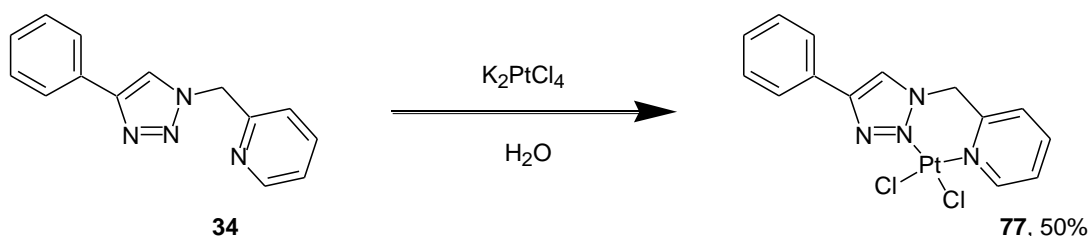


Figure 94. Complexation du platine par le ligand bidentate triazole inverse.

L'analyse RMN ^1H du complexe **77** a été réalisée dans le DMSO- d_6 , celle-ci est accord avec la littérature.

III.3. Préparation des complexes binucléaires de platine

III.3.1 Complexes binucléaires de platine comportant des ligands bis-bidentes bis-triazole à pont aliphatique.

Les synthèses des complexes binucléaires de platine **78** et **79** ont été réalisées au départ des chlorures des ligands **37** et **38** en présence de deux équivalents de KOH pour libérer les deux amines entrant en jeu pour la chélation du métal (Figure 95).

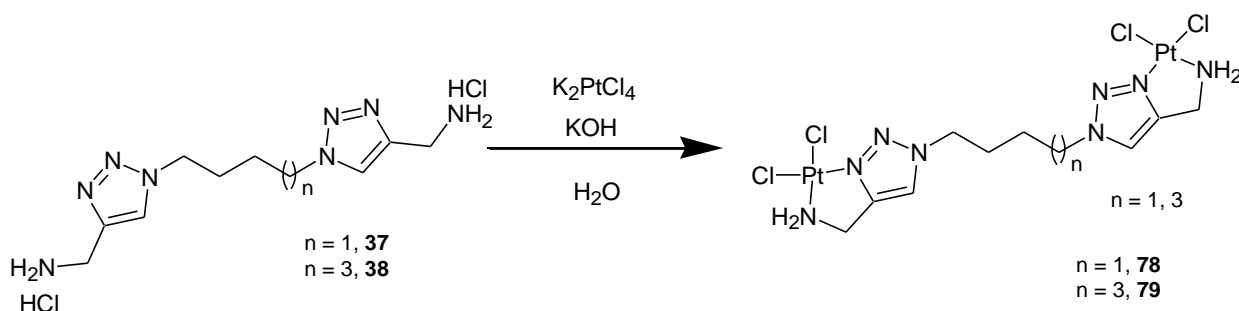


Figure 95. Complexation du platine par les ligands bis-bidentes bis-triazole possédant un pont aliphatique à 4 ou 6 carbones.

Les complexes **78** et **79** sont isolés en fin de réaction par filtration. Malheureusement, leur caractère très insoluble ne nous a pas permis de réaliser d'analyse RMN correctement exploitable. Nous avons réalisé l'analyse élémentaire du complexe **79**, celle-ci est en accord avec les résultats attendus. Néanmoins, cette analyse isolée ne nous permet pas de conclure sur la caractérisation du produit.

III.3.2 Complexe binucléaires de platine comportant le ligand bis-tridentés bis-triazole à pont aliphatique.

Pour pallier aux problèmes de solubilité rencontrés précédemment, nous avons cherché à obtenir des complexes cationiques. La synthèse du complexe binucléaire de platine **80** a été réalisée selon nos conditions standard au départ du chlorhydrate du ligand **36** et de K_2PtCl_4 en présence de quatre équivalents de KOH pour libérer les amines entrant en jeu lors la chélation du métal (Figure 96).

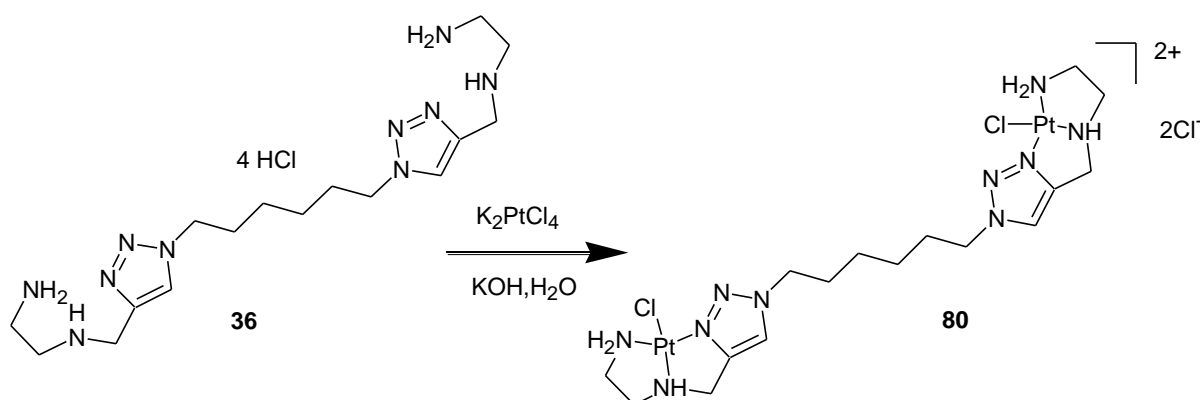


Figure 96. Complexation du platine par le ligand comportant deux unités triazole-diamine tridentes avec reliés par un pont aliphatique à 6 carbones.

Contrairement à ce que nous espérions, le complexe **80** est insoluble dans l'eau et le DMF. Aussi, nous avons réalisé l'analyse RMN- 1H dans le $DMSO-d_6$. Nous observons différents signaux correspondant au H-5 du triazole. Nous ne savons pas si ceci est du à la mauvaise solubilité du complexe et à la présence d'impuretés plus soluble ou si il y a eu des échanges de ligands avec le solvant.

III.3.3 Complexes binucléaires de platine comportant des ligands bis-bidentes bis-triazole à pont ammonium aliphatique.

L'introduction d'un ammonium sur l'espaceur reliant les deux triazoles devrait nous permettre d'obtenir des composés plus solubles. Les synthèses des complexes binucléaires de platine **81** et **82** ont été réalisées au départ des chlorhydrates **47** et **57** en présence de deux équivalents de base (Figure 97).

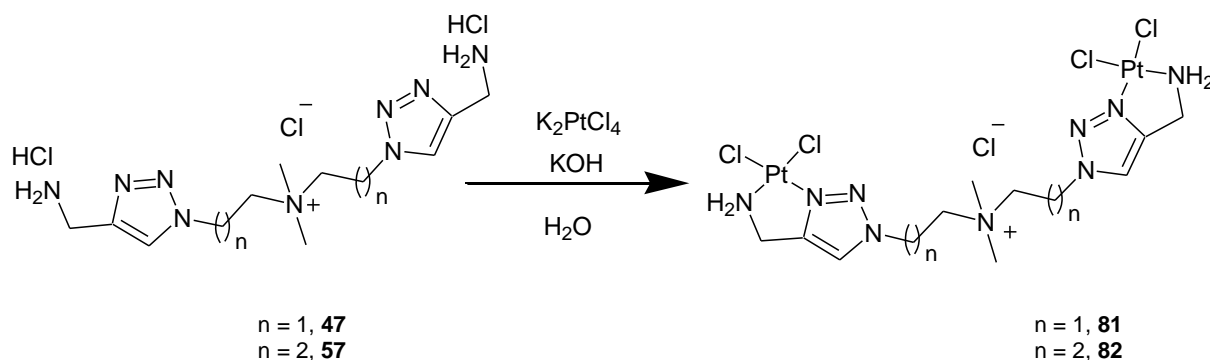


Figure 97. Complexation du platine par les ligands bis-bidentes bis-triazole à pont ammonium à 5 ou 7 chaînons.

Les complexes **81** et **82** ne sont pas solubles dans l'eau, dans le DMSO ou le DMF. Les analyses RMN- ^1H n'ont donc pu être réalisées.

Nous avons décidé de former le complexe aqua du complexe **81** en espérant obtenir un produit soluble et analysable. Ce dernier est mis en réaction en présence de cinq équivalents d' AgNO_3 dans de l'eau deutériée (Figure 98). En fin de réaction le chlorure d'argent formé est éliminé à l'aide d'un filtre millipore.

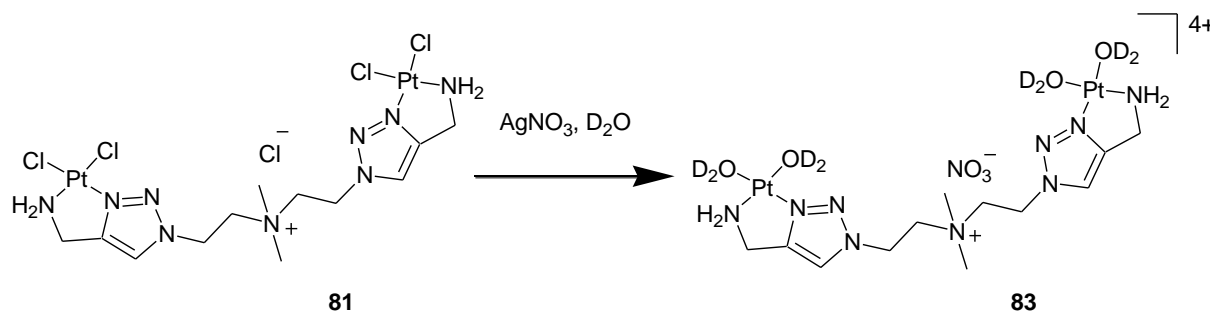


Figure 98. Aquation du complexe 81 par l'action du nitrate d'argent.

Malheureusement, la RMN- ^1H révèle la présence de multiples produits.

Toujours dans le but d'obtenir des complexes solubles plus facilement analysables, nous avons tenté de modifier la coordination du platine en échangeant les deux chlorures par des NH_3 puisque nous avons obtenu avec succès le produit soluble **72** dont la coordination du métal est identique. Pour cela, nous avons mis le complexe **81** en réaction avec l'ammoniaque (Figure 99).

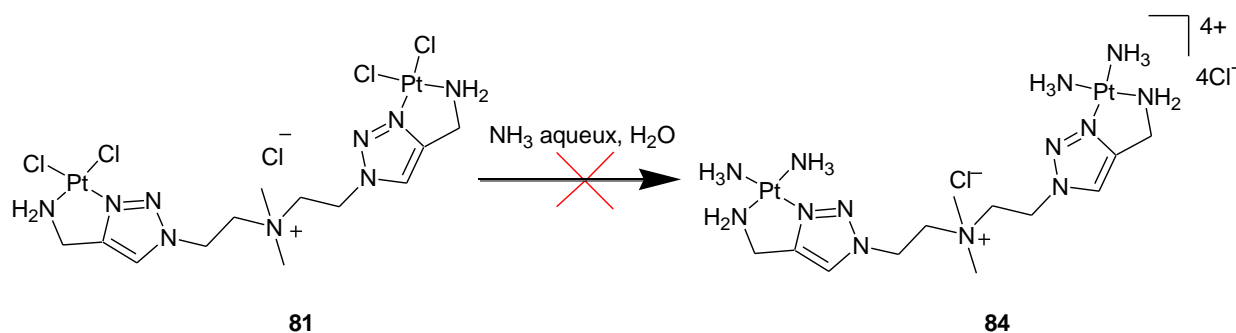


Figure 99. Tentative d'échange des ligands chlorures du platine par l'ammoniac.

Nous n'avons pas observé la formation du complexe attendu **84**. L'analyse RMN ^1H , réalisée dans D_2O , nous montre la présence de deux singulets (à 8,2 et 8,3 ppm) correspondant à deux triazoles. De plus, la présence d'un doublet dédoublé à 7,4 ppm ($J_{\text{trans}} = 15,8 \text{ Hz}$ et $J_{\text{cis}} = 8,7 \text{ Hz}$) et de deux doublets à 6,1 et 5,5 ppm (respectivement $J_{\text{trans}} = 15,8 \text{ Hz}$ et $J_{\text{cis}} = 8,7 \text{ Hz}$) nous amène à conclure qu'une élimination de type Hofmann similaire à celle rapportée plus haut pour le produit **48** a eu lieu (cf II.3.3).

Nous avons essayé d'obtenir le complexe **85** au départ du cisplatine comme réalisé avec succès pour le composé **72**.

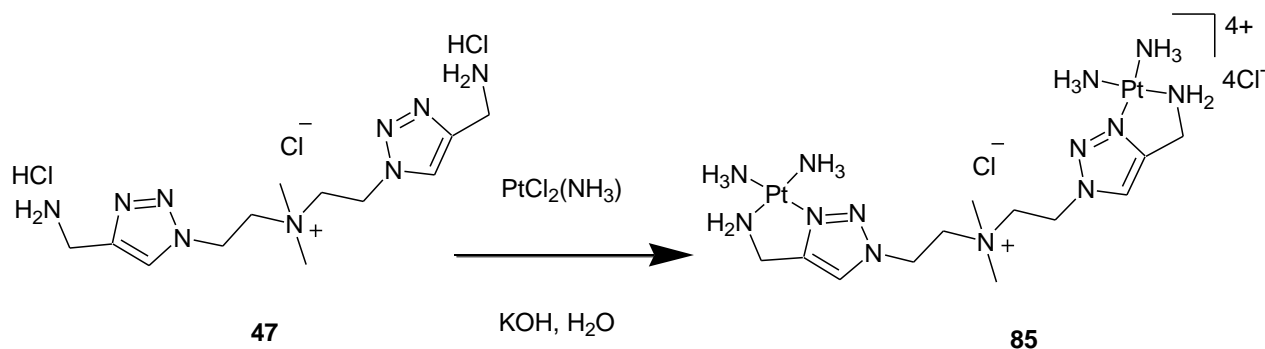


Figure 100. Complexation du cisplatine par le ligand bis-bidente bis-triazole à pont 5 chaînons centré sur un ammonium.

Après élimination des restes de cisplatine par filtration, le filtrat a été évaporé et analysé par RMN ^1H dans D_2O . Malheureusement, nous avons observé la présence de multiples signaux.

III.3.4 Complexe binucléaire de platine comportant des ligands bis-bis-bidentes bis-triazole inversé à pont di-ammonium.

La synthèse du complexe binucléaire de platine **86** a été réalisée au départ du ligand **61** possédant deux fonctions ammonium en milieux aqueux et en présence de deux équivalents du sel de platine K_2PtCl_4 pendant trois jours (Figure 101).

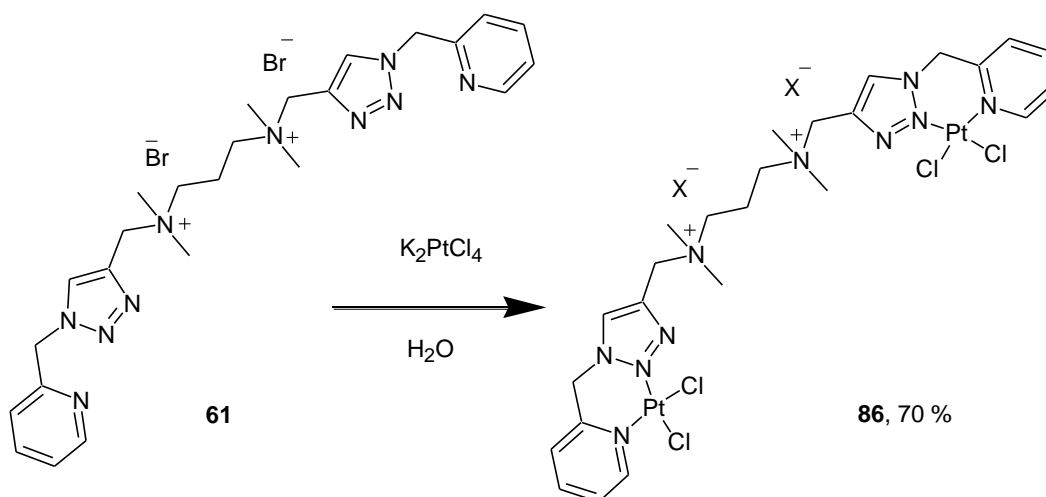


Figure 101. Complexation du platine par le ligand bis-bidente bis-triazole à pont à 7 chaînons avec deux ammoniums.

Le complexe **86** est insoluble dans l'eau et dans le DMF. Nous avons donc réalisé l'analyse RMN- 1H dans le DMSO. Nous observons un jeu de signaux caractérisés par la présence des signaux aromatiques de la pyridine, les protons aliphatiques ainsi que les méthyles. Nous observons, de plus, le déplacement caractéristique lié à une complexation des triazoles au platine *via* le déplacement du pic H-5 triazole de 8,64 à 8,57 ppm et du proton en α de l'azote de la pyridine de 8,56 à 8,51 ppm.

III.3.5 Conclusion

Dans cette partie, nous avons réalisé la complexation du platine(II) avec différentes familles de ligands triazoles. Nous avons dans un premier temps utilisé K_2PtCl_4 comme source de métal mais les complexes neutres obtenus s'avèrent être très insolubles dans l'eau et le DMF, ce qui rend leurs caractérisation difficile et limite leur utilisation en biologie.. De ce fait, nous avons d'utilisé d'autres sources de métal (cisplatine et sel de Cossa) pour former des complexe cationiques dans le but d'augmenter la solubilité aqueuse.

Cette stratégie nous a permis d'obtenir certains complexes dont l'analyse a pu être réalisée dans l'eau. Ainsi, nous avons pu obtenir le complexe soluble **72**. Par contre, l'utilisation du sel de Cossa ne nous a pas permis d'obtenir des complexes possédant une solubilité suffisante et a mené à la formation de plusieurs produits.

Néanmoins, nous avons obtenu trois complexes (deux directs (Pt, **1** ; Pd, **74** et un inversé **77**) dont les solubilités permettent d'entamer une étude plus poussée vis-à-vis de leurs interactions avec les bases nucléiques, à laquelle sera consacré le chapitre suivant.

Chapitre IV : Réactivité des complexes avec l'ADN

IV.1. Introduction

L'activité biologique des complexes de platine 1,2,3-triazole bidentes avait déjà fait l'objet avant mon arrivée au laboratoire d'une étude montrant, dans certains cas, leur cytotoxicité. Néanmoins, nous ne connaissions pas encore leur mode d'action. Dans un premier temps, nous nous sommes proposé d'étudier leurs interactions avec les nucléosides avant d'envisager une étude sur l'ADN. Pour cela, nous sommes parti d'un modèle simple, la guanosine, afin d'identifier les adduits du platine et de la partie guanine du nucléoside. Notre étude s'est poursuivie par l'évaluation des interactions avec de l'ADN plasmidique. Enfin nous avons décidé d'étudier plus en détail le mode d'interaction des complexes avec une séquence d'ADN autoccomplémentaire avec une structure en épingle à cheveux (*hairpin*) pour tenter de quantifier les différents types d'adduits formés (mono, intra ou interbin).

IV.2. Interaction des complexes métalliques (Pt, Pd) avec la guanosine.

Nous avons mis en réaction les complexes platinés et palladiés **1** et **74** avec la guanosine. Pour cela, nous nous sommes basé sur les travaux d'Eastman précédemment réalisés avec le cisplatine et différents désoxyribonucléoside (G, A et C).¹⁸² (Schéma 22).

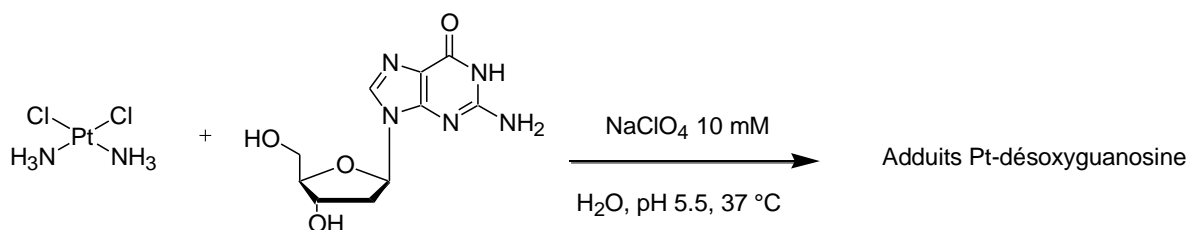


Schéma 22. Réaction du cisplatine avec la désoxyguanosine.

Différentes expériences ont été réalisées, notamment en variant les rapports molaires cisplatine/désoxyguanosine (rapports : 1/5, 1/1, 5/1). Les mélanges réactionnels ont été analysés par HPLC et les différents produits séparés ont été analysés par RMN- ^1H afin d'être identifiés. Les profils chromatographiques des réactions sont présentés dans la figure 102.

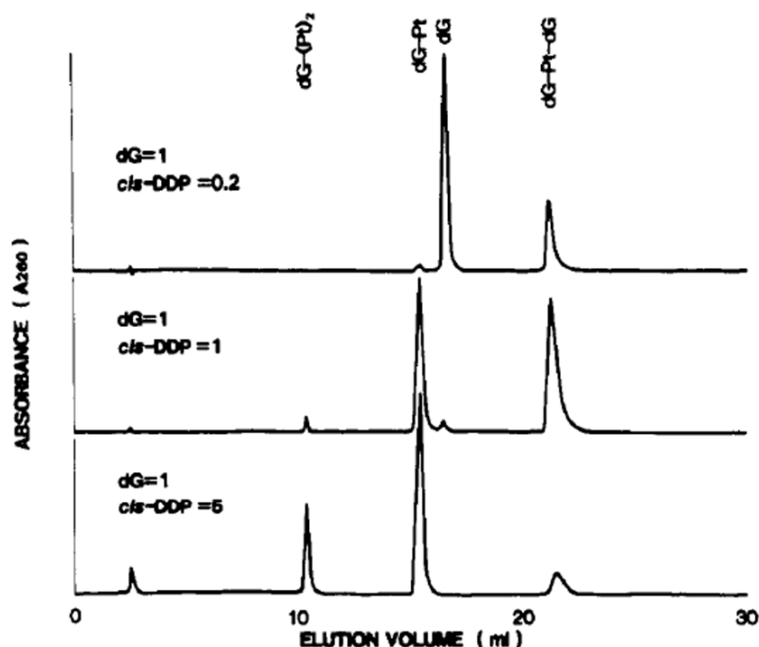


Figure 102. Chromatogramme HPLC pour la séparation des produits issus de la réaction du cisplatine avec la désoxyguanosine avec des rapports molaires différents : 1/5, 1/1, 5/1.¹⁸²

La proportion des produits formés dépend fortement des conditions réactionnelles.

En présence d'un excès de désoxyguanosine (dG), le produit majoritaire correspond à un adduit dG-Pt-dG (Figure 102). En présence d'un excès de cisplatine par rapport au désoxyribonucléoside, le produit majoritaire correspond au mono-adduit dG-Pt. Un autre produit peut éventuellement être observé, il s'agit de l'adduit dG-Pt₂. La RMN-¹H du mono-adduit dG-Pt a révélé un changement du déplacement chimique du proton H-8 de la guanosine pour lequel une variation de +0,4 ppm a lieu (tableau 8).¹⁸²

	Déplacement chimique du H-8 (ppm)
Désoxyguanosine (dG)	8,08
Adduit dG-Pt	8,49

Tableau 8. Analyse des déplacements chimiques du proton H-8 de la désoxyguanosine.

Les mêmes observations ont été rapportées par Plavec et Chattopadhyaya qui ont utilisé la forme activée aqua du cisplatine.¹⁸³

Pour notre étude, nous avons décidé de suivre le protocole de Plavec et Chattopadhyaya pour obtenir les formes « aqua » des complexes **1** et **74**. Les complexes sont mis en réaction avec deux équivalents de nitrate d'argent dans l'eau et à l'obscurité pendant 48 heures. En fin de

réaction le précipité de chlorure d'argent formé est éliminé à l'aide d'un filtre Millipore (Schéma 23).

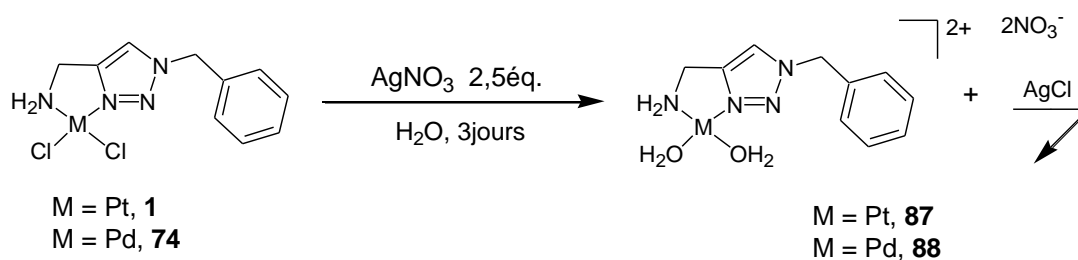


Schéma 23. Activation du complexe par aquation du métal en présence d'AgNO₃.

Nous avons mis les complexes aqua **87** et **88** en réaction avec 2,5 équivalents de guanosine dans l'eau pendant 24 heures (Schéma 24). Après un temps choisi, une addition de NaCl saturé permet d'arrêter toute réaction, puis les échantillons sont filtrés.

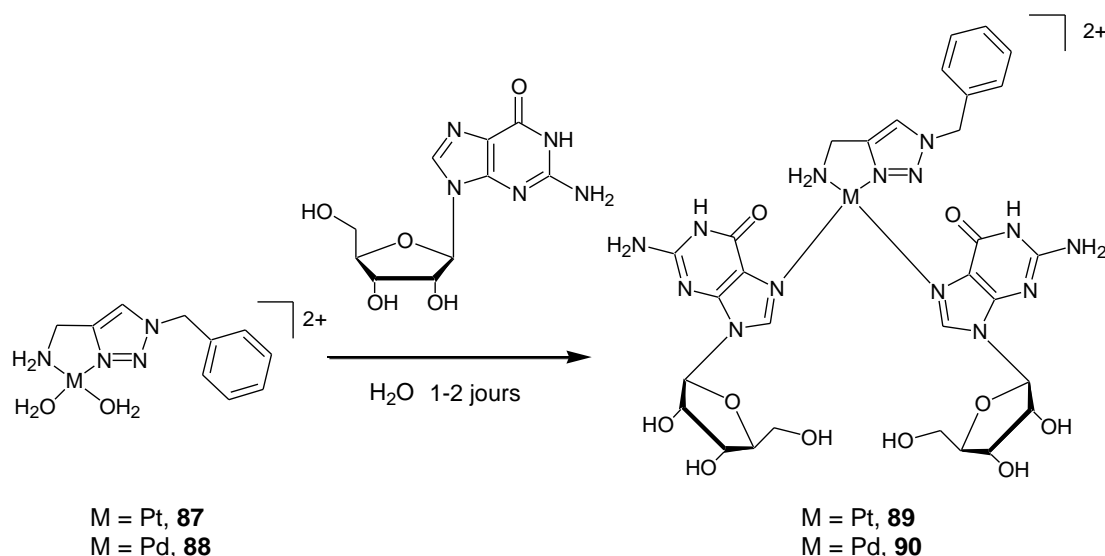


Schéma 24. Réaction des complexes aqua **87 et **88** avec la guanosine.**

Pour la réaction du complexe aqua **87** avec la guanosine, le mélange réactionnel a été analysé par HPLC analytique (MeOH/AcONH₄ (0,1 M), pH 5,5 avec un gradient de MeOH de 5 à 30 %) (Figure 103). Sur le chromatogramme, nous observons le pic résiduel du complexe platiné de départ (7,9 min.), le second pic correspondant à la guanosine libre (13,2 min) et le troisième pic à l'unique adduit formé, l'adduit G-Pt-G (29,9 min).

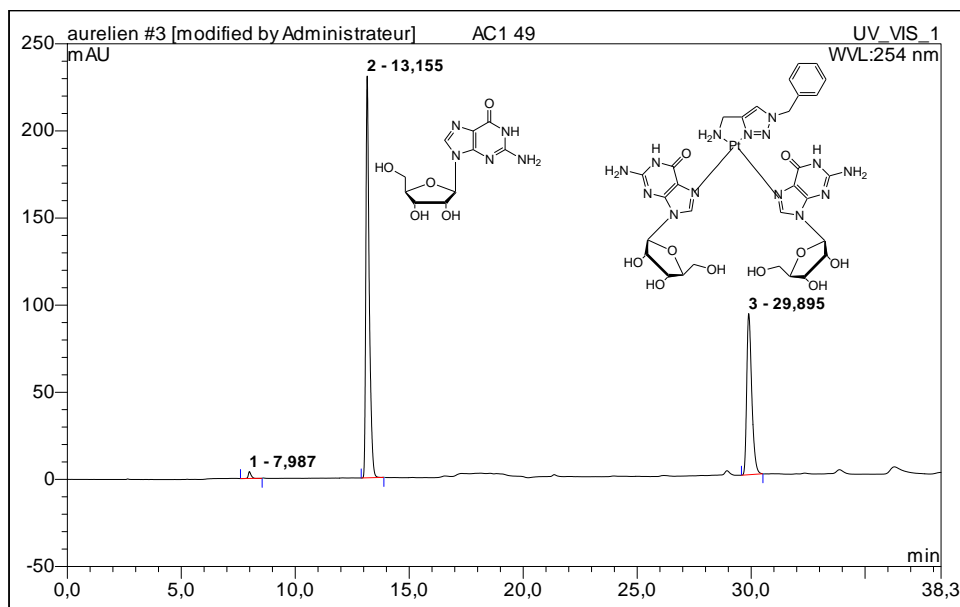


Figure 103. Chromatogramme HPLC pour la séparation des produits issus de la réaction du dérivé aqua du complexe platiné (1) avec la guanosine.¹⁸⁴

L'adduit platiné **89** a pu être isolé après séparation du mélange par HPLC préparative (MeOH/AcONH₄ 0,1 M, pH 5,5 condition isocratique 25 % - 75 %). Le mélange a ensuite été dessalé en utilisant une membrane de dialyse dont le « cut-off » est à 500 daltons. Le complexe a été identifié par analyse RMN-¹H et par spectrométrie de masse.

La structure du complexe platiné **89** a été confirmée par analyse RMN-¹H. Le spectre présenté dans la figure 104 confirme la présence d'un unique produit de stœchiométrie 1:2 (métal/guanosine). Nous observons un changement du déplacement chimique des protons H-8 des deux guanosines pour lesquels une variation de + 0,4 et + 0,5 ppm a lieu (en comparaison avec le déplacement chimique du H-8 de la guanosine de 8,0 ppm dans D₂O). Ceci confirme une platination de l'azote N-7 des guanosines par le complexe **1**, comme déjà rapporté pour le cisplatine. En raison de l'asymétrie du complexe, le spectre présente deux groupes de signaux distincts pour la partie nucléoside (cela n'est pas observé dans le cas de l'adduit symétrique avec le cisplatine).¹⁸³ L'attribution des signaux a été faite grâce à l'exploitation de l'analyse d'un spectre RMN de corrélation ¹H-¹H (COSY).

L'analyse en spectrométrie de masse du complexe **89** (masse exacte = 949.2543), présente un pic de base caractéristique à $m/z = 474.5974$, correspondant à $[M]^{2+}$ (Figure 105). Ceci nous permet d'attester de la formation du complexe. Le motif isotopique de ce pic est en accord avec la présence d'un platine.

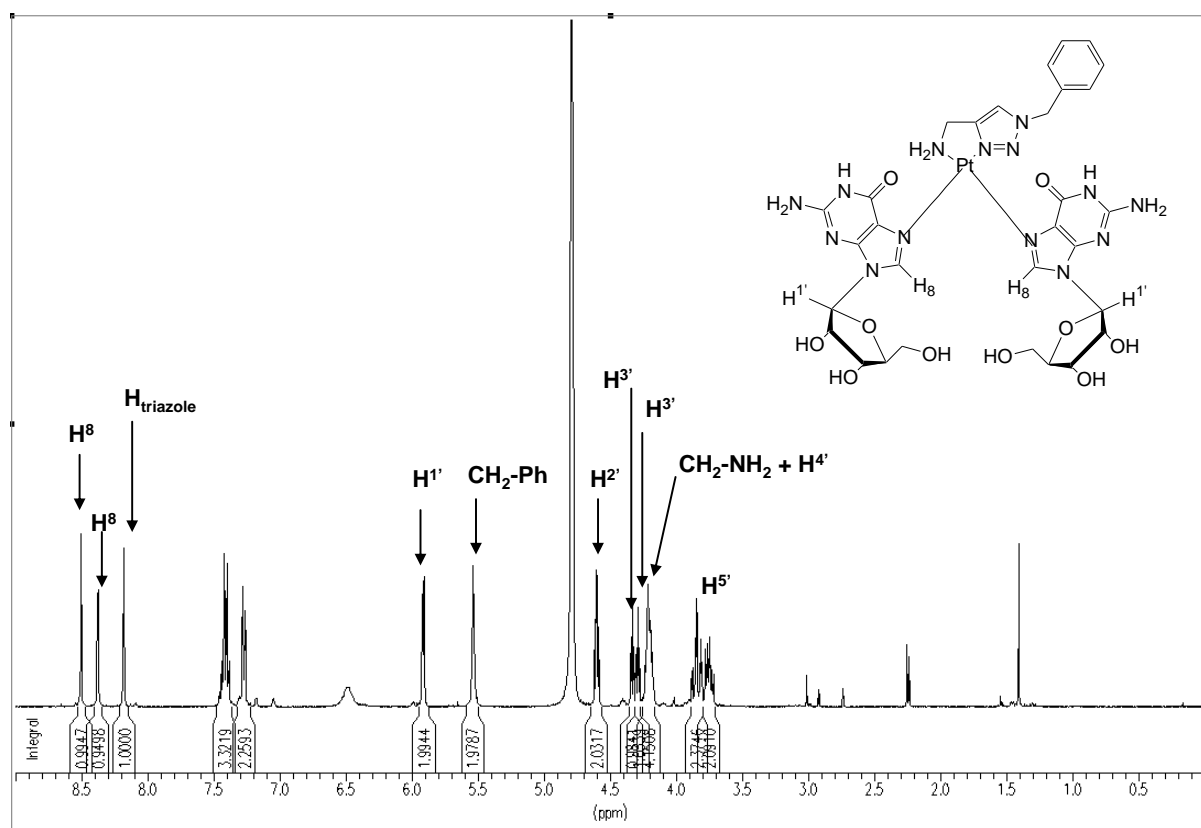


Figure 104. Spectre RMN ^1H du complexe platine guanosine 89 dans D_2O (300 K).

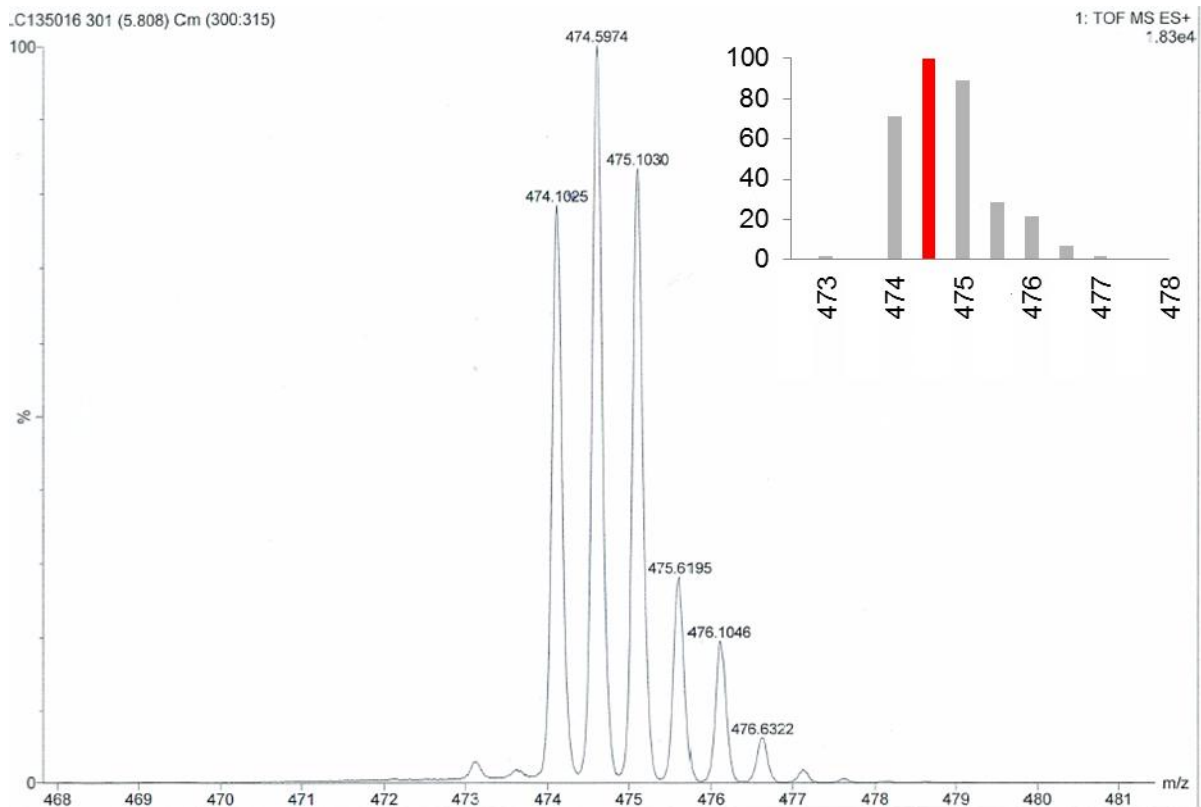


Figure 105. Spectre de masse du complexe platine guanosine 89.

Dans le cas du complexe palladié **90**, la réaction fournit un produit unique sans doute parce que la première étape d'aquation est plus efficace que dans le cas du platine. Le produit a donc pu être utilisé tel quel pour l'analyse RMN- ^1H (Figure 106). Le spectre RMN du complexe palladium-guanosine confirme une stœchiométrie 1:2. La métallation de l'azote N-7 des guanosines est confirmée par les déplacements chimiques des protons H-8, pour lesquels on observe une variation de + 0,40 et + 0,30 ppm par rapport à la guanosine. Comme pour son analogue platiné, on observe deux groupes de signaux distincts pour la partie nucléoside, du fait de l'asymétrie de la molécule.

L'analyse en spectrométrie de masse du complexe **90** (masse exacte = 860.1930), présente un pic de majoritaire caractéristique à $m/z = 430.0948$, correspondant à $[M]^{2+}$ (Figure 117). Ceci nous permet d'attester de la formation du complexe. Le motif isotopique de ce pic est en accord avec la présence d'un palladium.

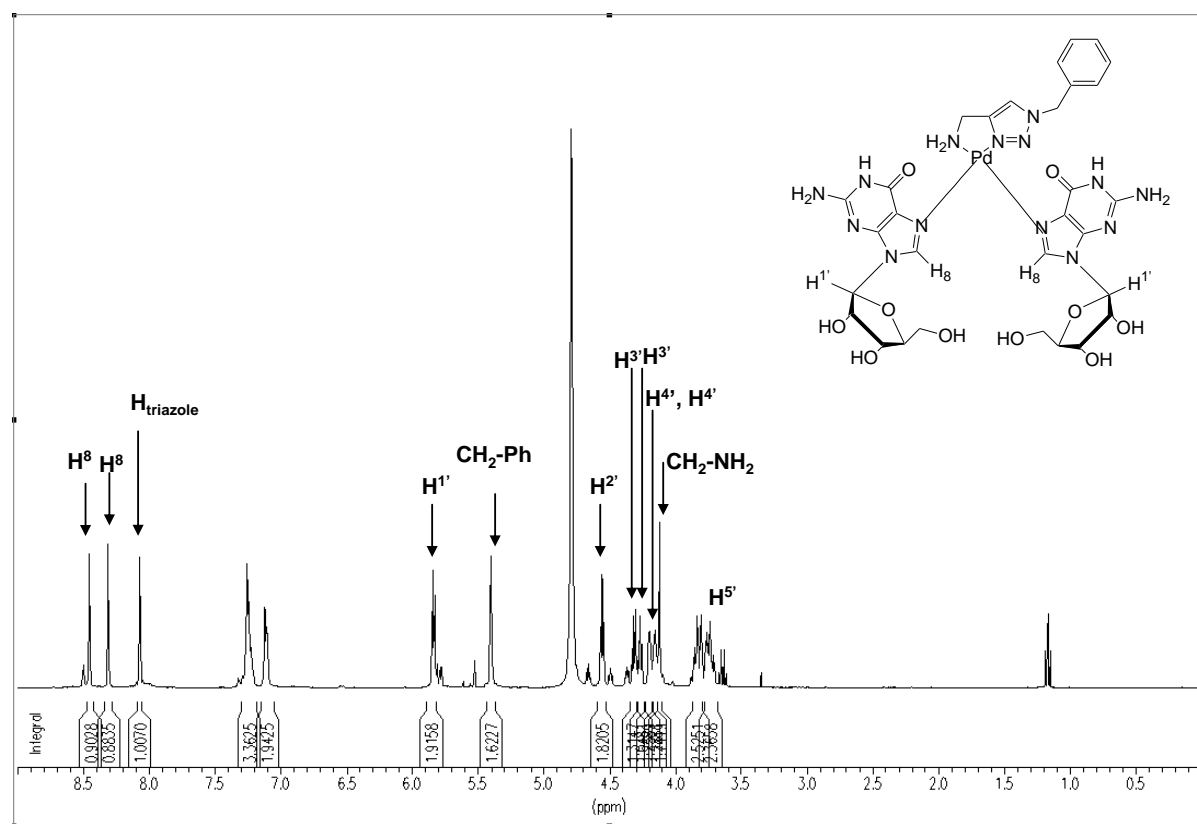


Figure 106. Spectre RMN ^1H du complexe palladium-guanosine 90 dans D_2O (300 K).

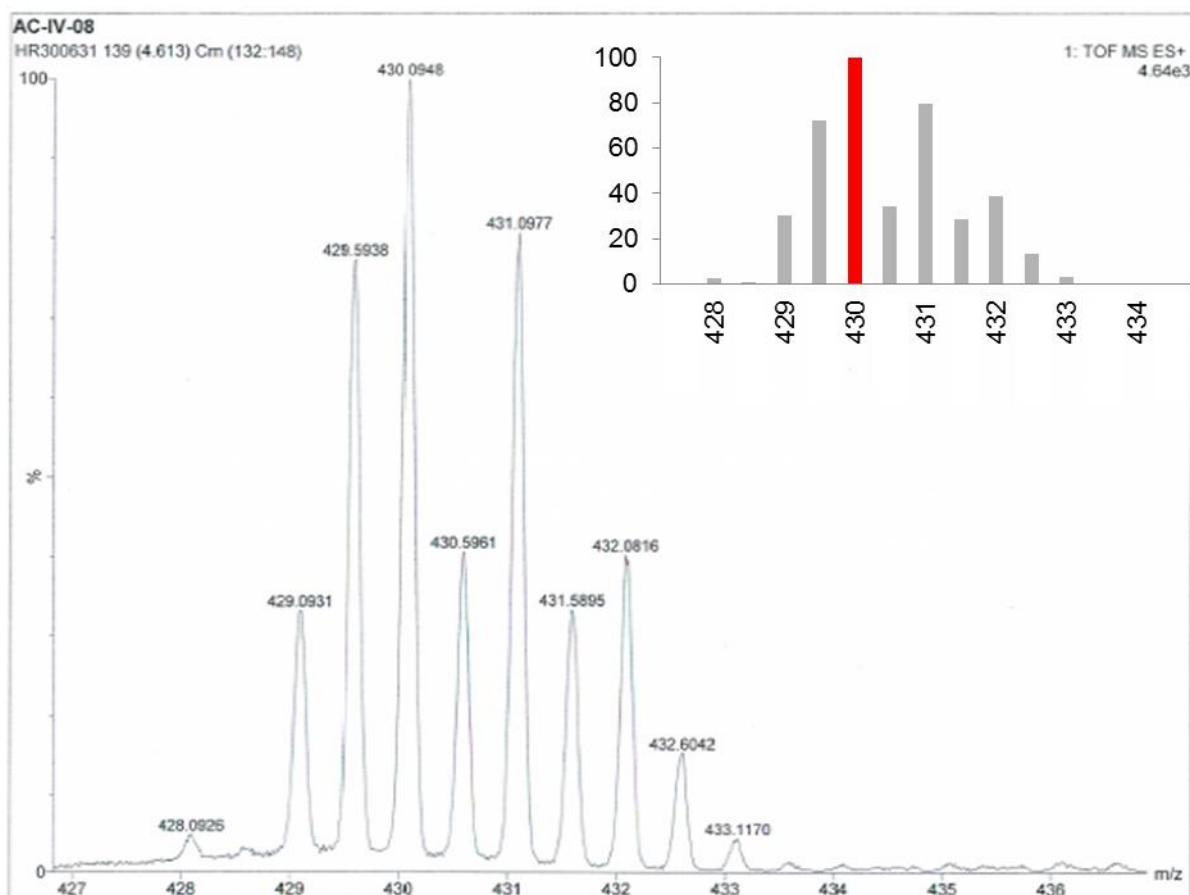


Figure 107. Spectre de masse du complexe palladium-guanosine 90.

En conclusion, nous avons réussi à obtenir des adduits similaires à ceux obtenus avec le cisplatine. La formation des complexes cationiques semble plus facile dans le cas du palladium, un phénomène que nous attribuons à la plus grande facilité de formation de l'espèce aqua.

IV.3. Interaction des complexes métalliques (Pt, Pd) avec l'ADN plasmidique surenroulé.

L'ADN plasmidique surenroulé est souvent utilisé comme un outil servant à mettre en évidence l'interaction d'une molécule avec l'ADN. Selon la nature de l'interaction, le plasmide peut adopter différentes formes appelées « relaxées ». Dans le cas d'une interaction covalente produite par une platination (Figure 108), des forces de tension se créent et produisent une détorsion du plasmide en forme relaxée. Dans le cas d'une coupure, la détérioration d'un brin entraîne aussi une relaxation que l'on nomme forme ouverte ou *open circular*. Une simple électrophorèse sur gel permet alors d'identifier facilement les différentes formes du plasmide.

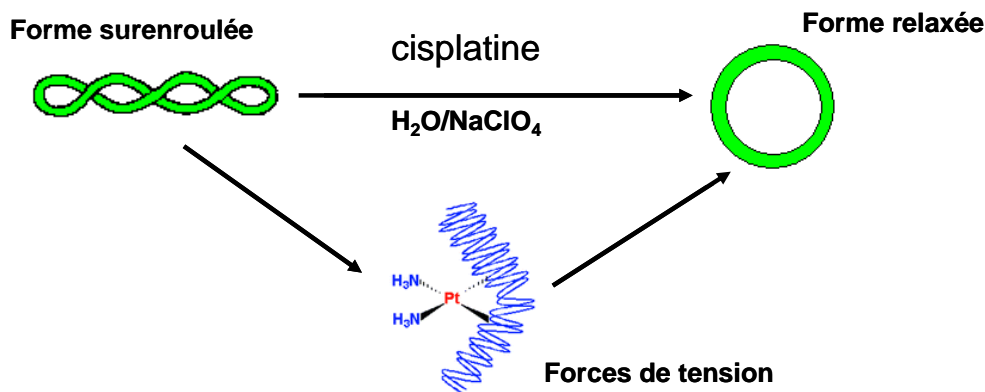


Figure 108. Relaxation du plasmide surenroulé par l'action du cisplatine.

Nous avons donc mis à profit ce type d'expérience pour nous assurer que nos complexes interagissent avec l'ADN plasmidique de façon similaire au cisplatine.

Pour cette série d'analyses nous avons examiné la génotoxicité des complexes « directs » **1** et **74** et le complexe « inverse » **77** sur le plasmide surenroulé pcDNA4TO. Les résultats pour nos complexes sont comparés à ceux obtenus avec le cisplatine. La figure 109 présente le gel d'électrophorèse obtenu après 24 heures de réaction. La ligne 1 correspond au contrôle plasmide surenroulé. En ligne 2, l'endonucléase BamHI est utilisée pour linéariser le plasmide afin de différencier les formes linéaire et relaxée. La ligne 3 correspond au contrôle plasmide en présence de perchlorate de sodium. La ligne 4 correspond à l'action du cisplatine connu pour relaxer le plasmide. La ligne 5 correspond au contrôle plasmide en présence de DMF et de $NaClO_4$. Enfin, les lignes 6, 7 et 8 présentent respectivement l'action des complexes **1**, **74** et **77**.

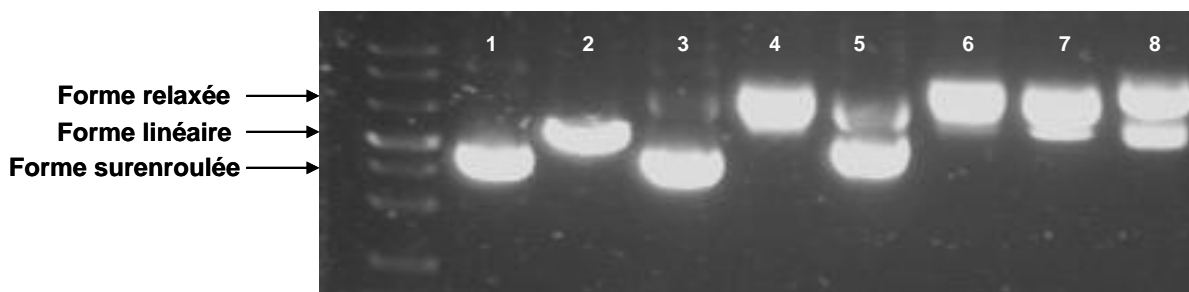


Figure 109. Gel électrophorèse (1% agarose) présentant l'action du cisplatine et des complexes **1, **74** et **77** sur le plasmide surenroulé pcDNA4TO. 1) Blanc plasmide surenroulé, 2) plasmide linéarisé par BamHI, 3) contrôle plasmide + $NaClO_4$, 4) action du cisplatine, 5) contrôle plasmide + DMF+ $NaClO_4$, 6) action complexe **1**, 7) action complexe **74**, 8) action complexe **77**.**

Il apparaît que la relaxation du plasmide a lieu quelque soit la nature du métal (platine, ligne 6 ou palladium, ligne 7) ou du ligand (direct, ligne 6 ou inverse, ligne 8) et ceci, de façon similaire à l'action du cisplatine.

Pour aller plus loin dans la démarche de compréhension, nous avons essayé de déterminer le type d'adduits formés avec l'ADN grâce à l'utilisation d'un oligonucléotide de séquence connue.

IV.4. Interaction du complexe métallique (Pt) avec l'ADN en structure hairpin.

IV.4.1 Rappel bibliographique

Pour ce travail, nous avons repris des études réalisées par l'équipe de Kozelka qui, pour la mise en évidence du mécanisme réactionnel des complexes de platine sur l'ADN, utilise des séquences connues d'oligonucléotides auto-complémentaires en forme d'épingle à cheveux (*hairpin*).^{185,186} L'hairpin présentée dans la figure 110 a été sélectionnée car elle permet de former à la fois des pontages inter- et intrabrin.

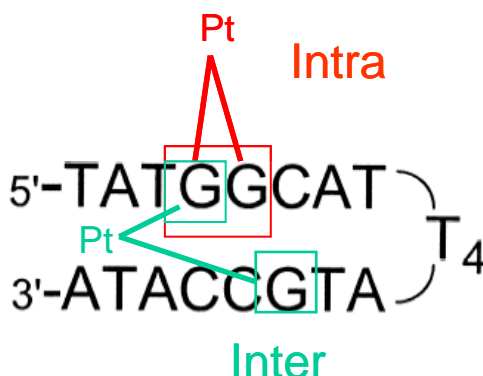


Figure 110. Structure de l'hairpin (20 mer auto-complémentaire : 5'-TATGGCAT(T)₄ ATGCCATA-3') dont la structure permet des pontage intra- et interbrins par l'action d'un complexe de platine.

L'équipe de Kozelka a réalisé des cinétiques de complexation du cisplatine sous forme diaqua en considérant des mono-adduits et des chélations intra- et interbrins. La réaction entre cette hairpin et le $\text{cis-[Pt(NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ évolue selon trois réactions de platination indépendantes et quatre réactions de chélation (Figure 111). Le résultat a été analysé par HPLC (Figure 112), cinq nouvelles espèces ont pu être mises en évidence : 3 mono-adduits, 1 pontage intrabrin et 1 pontage interbrins.

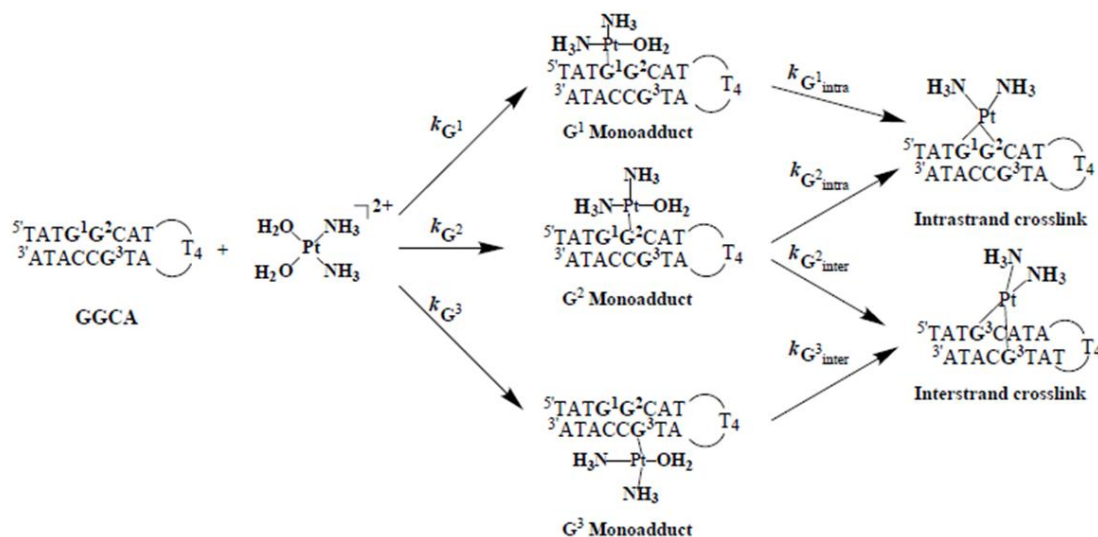


Figure 111. Réaction du dérivé diaqua du cisplatine avec l'hairpin.¹⁸⁵

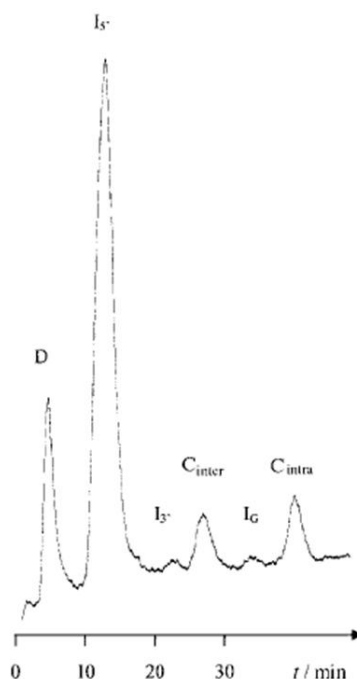
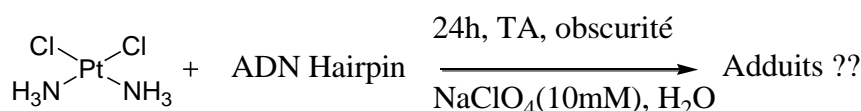


Figure 112. Chromatogramme HPLC du mélange réactionnel issu de l'action du dérivé diaqua du cisplatine avec l'hairpin. D : hairpin libre, $I_{5'}$, $I_{3'}$, I_G : monoadduit respectivement sur G¹, G² et G³, C_{intra} : chelation intrabrin, C_{inter} : pontage interbrins.¹⁸⁵

Les sites de fixation et les intermédiaires ont été identifiés après une digestion enzymatique des produits et une analyse par spectrométrie de masse des fragments ou par la méthode de séquençage de Maxam-Gilbert.¹⁸⁷

IV.4.2 Interaction du complexe de platine 1 avec l'hairpin

Nous nous sommes concentrés sur la réactivité du complexe platiné **1** avec l'hairpin par comparaison avec le cisplatine. La figure 113 présente le mode opératoire mis en place. Nous nous sommes basés sur une stœchiométrie 1:1 platine/hairpin afin de faciliter la détermination de la proportion des différents adduits. Les concentrations utilisées pour les complexes de platine sont en accord avec celles décrites dans les expériences de Kozelka (10^{-4} M).



	concentrations	nombre de moles
Hairpin	$1,72 \cdot 10^{-4}$ M	1,72 nmoles
Cisplatine	$2,00 \cdot 10^{-4}$ M	2,00 nmoles

Figure 113. Conditions utilisées pour la réaction du cisplatine avec l'hairpin.

Pour le complexe **1**, la réaction se déroule en présence de 1% de DMF, pour des raisons de solubilité. Les échantillons ont ensuite été analysés par HPLC analytique (colonne nucleosil C8, phase mobile TEAA (acétate de triéthylammonium) 20 mM + NH_4Cl 1M, gradient acétonitrile 10-20%). Les figures 114 et 115 présentent respectivement les chromatogrammes obtenus pour le cisplatine et le complexe **1**.

Les échantillons ont également été analysés par HPLC couplée à la spectrométrie de masse, ce qui nous a permis de vérifier la nature des adduits (simple ou double adduit).

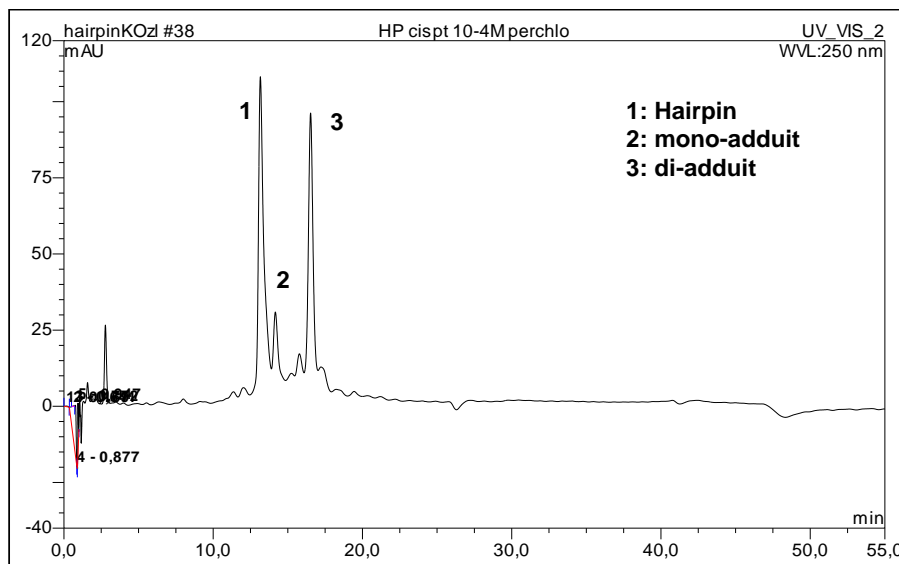


Figure 114. Chromatogramme du mélange des adduits formés entre le cisplatine et l'hairpin.

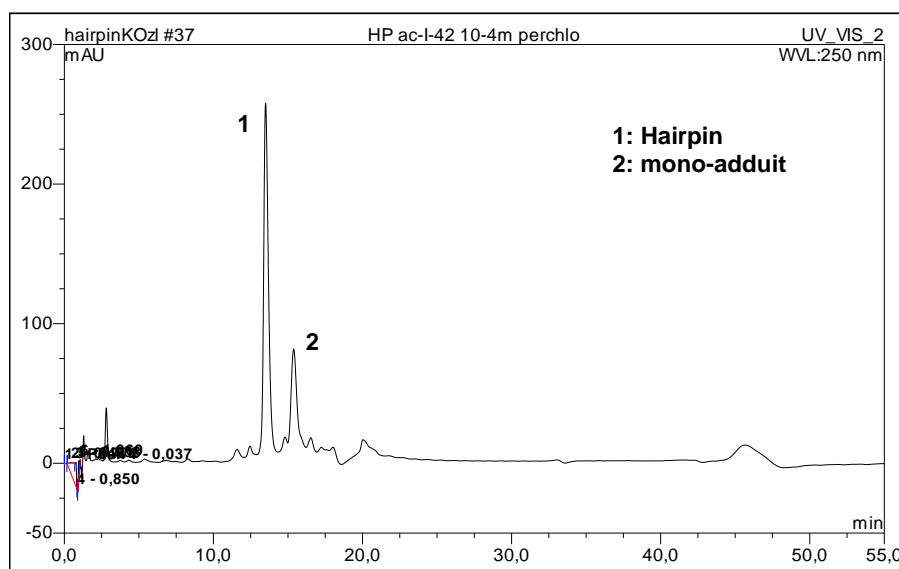


Figure 115. Chromatogramme du mélange des adduits formés entre le complexe de platine (1) et l'hairpin.

Pour la réaction entre le cisplatine et l'hairpin, nous observons sur le chromatogramme HPLC la présence de trois produits. Le premier pic correspond à l'hairpin seule (même temps de rétention). En spectrométrie de masse, les fonctions phosphates sont partiellement protonées pour donner un signal associé à une espèce trianionique (masse d'un hairpin : 6094 daltons, $m/3 = 2031,3$). Le second pic correspond à un mono-adduit du platine. Il se caractérise par un signal d'une espèce trianionique à $m/3 = 2119,6$ ce qui correspond à l'addition de $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]^+$ sur l'hairpin ($m = 6358,6$ daltons). Le troisième pic, obtenu majoritairement, correspond à l'addition de $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ sur l'hairpin ($m = 6323,1$ daltons), caractérisé en spectrométrie masse par un signal $m/3 = 2107,6$.

Dans le cas du complexe **1**, mis à part l'hairpin de départ, un seul produit est détecté. En spectrométrie de masse il se caractérise par un signal à $m/3 = 2171,3$ conforme à l'addition de $[\text{Pt}(\text{triazole})\text{Cl}]^+$ sur l'hairpin ($m = 6515,8$ daltons). Dans ces conditions réactionnelles, d'une manière générale peu d'adduits sont formés par rapport à la quantité d'hairpin de départ. Le cisplatine forme majoritairement du di-adduit, tandis que le complexe **1** ne forme qu'une petite quantité de mono-adduit.

Pour essayer de mieux comprendre les résultats obtenus, nous avons décidé de travailler directement avec les dérivés aqua des complexes de platine connus pour être plus réactifs. Pour cela, les complexes aqua du cisplatine et du complexe **1** ont été obtenus en utilisant le nitrate d'argent comme décrit précédemment. Les complexes aqua ont été mis en réaction dans l'eau directement avec l'hairpin dans les mêmes conditions réactionnelles que celles

présentées dans la figure 113. Les échantillons ont été analysés par HPLC analytique (Figures 116 et 117) et la nature des adduits a été vérifiée par spectrométrie de masse.

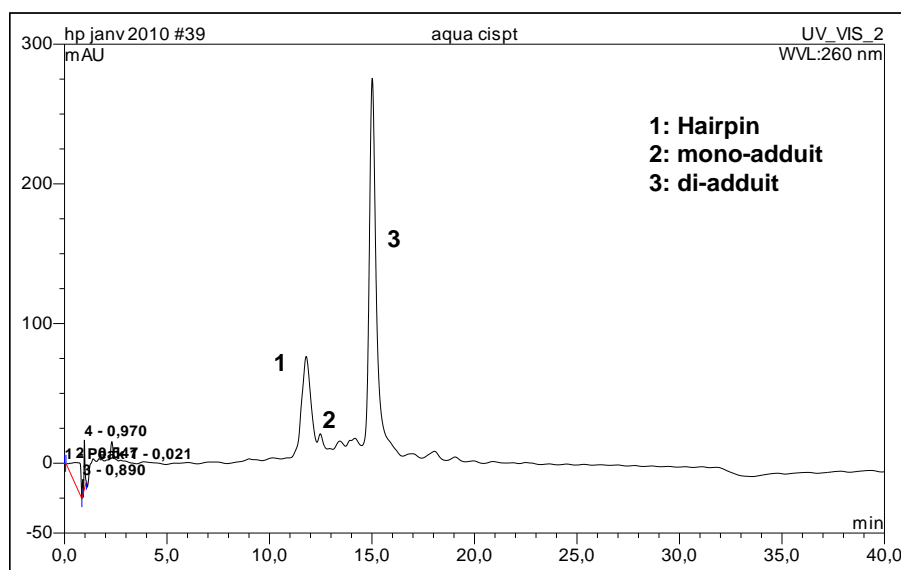


Figure 116. Chromatogramme du mélange des adduits formés entre le dérivé diaqua du cisplatine et l'hairpin.

Grâce à l'utilisation du complexe aqua, la quantité totale d'adduits formée est supérieure à celle obtenue avec le cisplatine. Les proportions des adduits formés sont changées (comparaison figures 114 et 116). On constate que le di-adduit semble être favorisé et que la quantité de mono-adduit est diminuée.

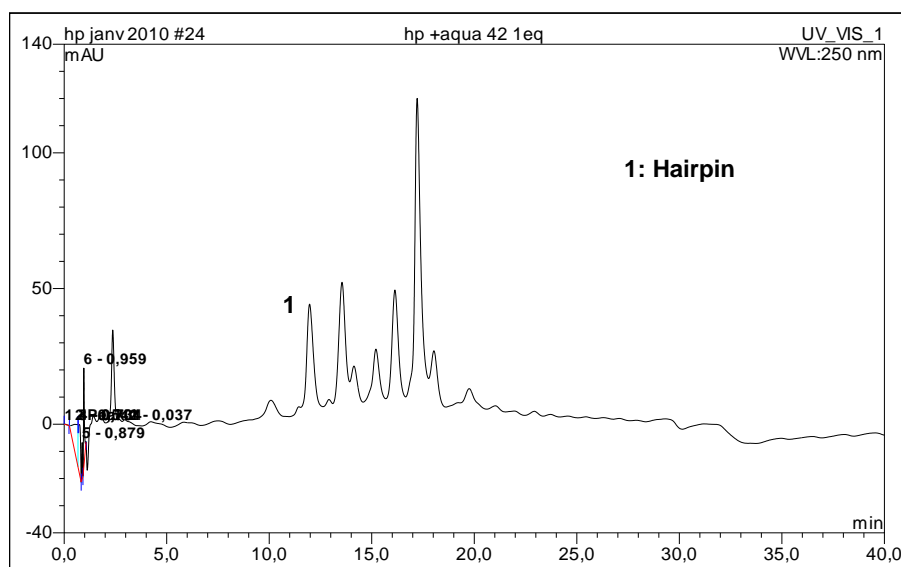


Figure 117. Chromatogramme du mélange des adduits formés entre le dérivé diaqua du complexe 1 et l'hairpin.

Dans le cas du complexe aqua de **1**, la quantité d'hairpin restante est très inférieure à celle obtenue avec le complexe **1**, mais de multiples produits sont formés (comparaison figure 115 et 117). Les conditions HPLC utilisées avant l'introduction dans le spectromètre de masse ne nous ont pas permis de séparer les différents produits, leurs identifications n'ont donc pu être réalisées.

IV.5. Conclusion

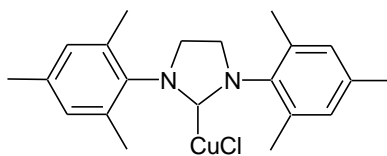
Nos expériences nous ont confirmé la formation d'adduits complexe-guanine de stœchiométrie 1 : 2. Nous avons testé la réactivité de trois complexes de natures différentes sur de l'ADN plasmidique surenroulé, les résultats ont montré une relaxation du plasmide similaire au cisplatine.

Enfin, nous avons essayé d'identifier la nature des adduits formés par le complexe **1** avec une séquence d'oligonucléotide en épingle à cheveux. Pour ce faire nous avons réalisé des réactions au départ du complexe neutre et de son dérivé aqua. Le complexe **1** forme une espèce de type mono-adduit. Sa forme aqua est apparue plus réactive, mais nous avons obtenus plusieurs produits que nous n'avons pas pu identifier.

Chapitre V : Le complexe [CuCl(SIMes)] : Catalyseur pour la CuAAC, activités biologiques.

V.1. Introduction

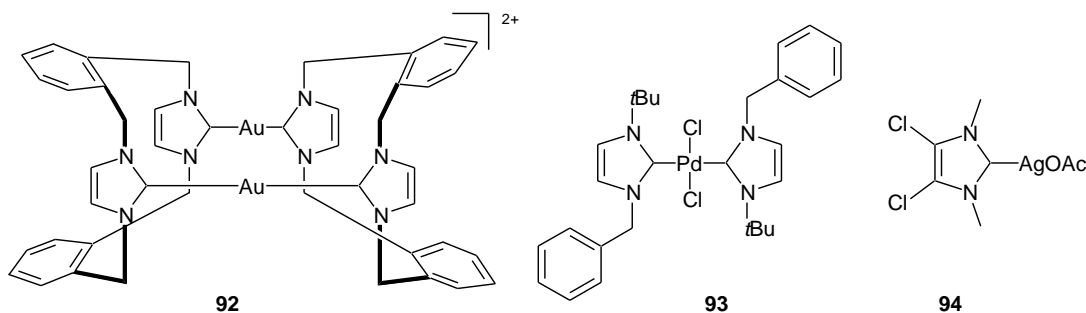
Au sein de l'équipe, différents sujets d'étude autour de complexes de carbènes *N*-hétérocyclique sont menés aussi bien dans le domaine de la catalyse que dans le domaine la l'étude de l'activité antitumorale. Ce chapitre présente tout d'abord différents résultats obtenus lors d'études de réactivité de dérivés du complexe de Nolan [CuCl(SIMes)], **91** comme catalyseur de la CuAAC. Par la suite nous rapportons les activités biologiques associées à **91** dans le domaine apoptotique.



91

Figure 118. Complexe [CuCl(SIMes)].

D'une manière générale les métallo-NHC sont souvent reconnus comme de bons catalyseurs, cependant quelques uns ont fait également l'objet de tests d'activité biologique. Beaucoup de tests se sont focalisées sur leurs activités antimicrobiennes, et très récemment leurs propriétés anticancéreuses ont fait l'objet d'étude et ont été rapportées dans une revue (Figure 119).¹⁸⁸



92

93

94

Figure 119. Exemples de complexes métal-NHC présentant des propriétés antiprolifératives.

Dans ce domaine, l'équipe de Baker et Berners-Price a mis au point une série de complexes homoleptiques Au(I)-(NHC)₂ comme le complexe **92** (Figure 119) possédant une activité pro-apoptotique.¹⁸⁹ Par la suite l'équipe de Panda et Ghosh a publié une étude dédiée aux complexes palladium(II)-NHC. Le complexe **93** se trouve être un agent antiprolifératif supérieur au cisplatine, notamment contre les cellules tumorales HL60 (leucémie) et provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G2.¹⁹⁰ Enfin un exemple récent de complexe anticancéreux, le complexe hétéroleptique argent(I)-NHC **94** développé par l'équipe de

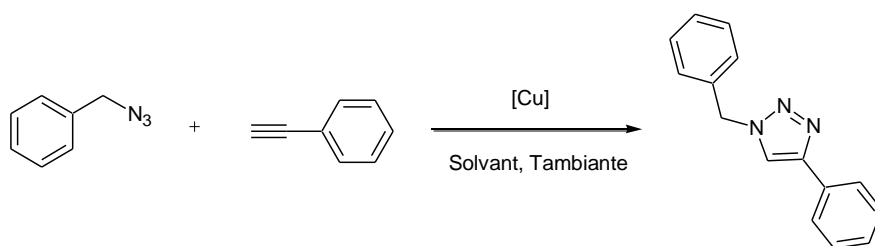
Youngs présente une IC₅₀ similaire à celle du cisplatine sur des lignées cellulaires des ovaires et du sein.¹⁹¹

Suites aux découvertes d'activités anticancéreuses de ces divers métallo-NHC, l'équipe a décidé de mener des tests d'activité biologique sur des NHC à base de cuivre(I). Ainsi, le complexe [CuCl(SIMes)] a également fait l'objet d'études de cytotoxicité contre les cellules tumorales.

V.2. Activité catalytique du [CuCl(SIMes)] pour la CuAAC et amélioration du système par addition de ligand donneur d'atomes N.

V.2.1 Criblage d'activité des cuivre(I)-NHC

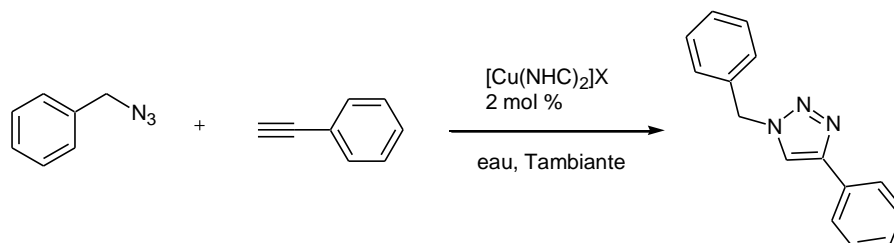
De nombreux complexes de cuivre ont été développés comme catalyseurs de la CuAAC. La méthode de catalyse la plus efficace consiste à combiner du cuivre avec des ligands aminés (TBTA, (BimC₄A)₃, bathophénantroline) en présence d'agent réducteurs sacrificiels (pour réduire le cuivre introduit à l'état Cu(II) et/ou pour empêcher l'oxydation du Cu(I)). D'autres catalyseurs à base de cuivre(I) ne nécessitant pas d'agent réducteur ont eux aussi fait leur preuves, notamment le complexe [CuCl(SIMes)], développé par l'équipe de Nolan. Dans un premier article, différents cuivre(I)-NHC ont fait l'objet de criblage d'activité. Il en ressort que les complexes [CuX(SIMes)] (X = Cl, Br) présentent une bonne activité avec une charge relativement élevée dans un mélange eau/*tert*-butanol. L'activité de ce catalyseur est encore augmentée dans des conditions 'on water' ou en l'absence de solvant (Figure 120).¹⁴²



Entrée	Catalyseurs (mol %)	Solvant	Temps (h)	Rendements [%]
1	[CuCl(IPr)] (5)	eau/tBuOH	18	18
2	[CuCl(IMes)] (5)	eau/tBuOH	18	65
3	[CuCl(SIMes)] (5)	eau/tBuOH	18	93
4	[CuBr(SIMes)] (5)	eau/tBuOH	9	95
5	[CuBr(SIMes)] (5)	eau	0.5	98
6	[CuBr(SIMes)] (0,8)	non	0.3	98

Figure 120. Criblage d'activité de complexe cuivre(I)-NHC pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène.¹⁴²

Dans un second article, Nolan et Diez rapportent le criblage d'activité de complexes de cuivre(I) homoleptiques de type $[\text{Cu}(\text{NHC})_2]\text{X}$ (Figure 121). Au cours de ce travail, le complexe $[\text{Cu}(\text{ICy})_2]\text{PF}_6$ s'est révélé très efficace pour catalyser la réaction de cycloaddition entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène. Le catalyseur peut être utilisé avec une charge catalytique de 50 ppm dans des conditions sans solvant.¹⁴³



$[\text{Cu}(\text{NHC})_2]\text{PF}_6$	Temps (h)	% conv.	$[\text{Cu}(\text{NHC})_2]\text{BF}_4$	Temps (h)	% conv.
$[\text{Cu}(\text{IPr})_2]\text{PF}_6$	18	71	$[\text{Cu}(\text{IPr})_2]\text{BF}_4$	8	100
$[\text{Cu}(\text{SIPr})_2]\text{PF}_6$	5	100	$[\text{Cu}(\text{SIPr})_2]\text{BF}_4$	5	100
$[\text{Cu}(\text{IMes})_2]\text{PF}_6$	6	100	$[\text{Cu}(\text{IMes})_2]\text{BF}_4$	6	100
$[\text{Cu}(\text{SIMes})_2]\text{PF}_6$	18	5	$[\text{Cu}(\text{SIMes})_2]\text{BF}_4$	18	13
$[\text{Cu}(\text{ICy})_2]\text{PF}_6$	1,5	99	$[\text{Cu}(\text{ICy})_2]\text{BF}_4$	5	95
$[\text{Cu}(\text{IAd})_2]\text{PF}_6$	5	100	$[\text{Cu}(\text{IAd})_2]\text{BF}_4$	3	100
$[\text{Cu}(\text{ItBu})_2]\text{PF}_6$	18	76	$[\text{Cu}(\text{ItBu})_2]\text{BF}_4$	18	35

Figure 121. Criblage d'activité de complexe $[\text{Cu}(\text{NHC})_2]\text{X}$ pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène.¹⁴³

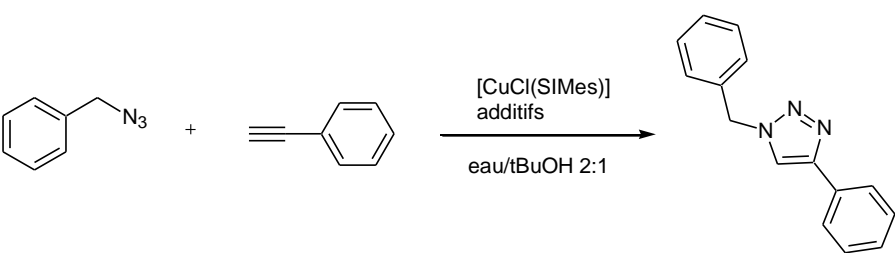
Néanmoins, les conditions optimales (*on water* ou sans solvant) de ces deux catalyseurs restent limitées à la synthèse de triazoles au départ de produits liquides. Ces conditions ne sont également pas adaptées à la synthèse en solution de produits sensibles.

V.2.2 Criblage d'activité du $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ en présence d'additifs chélatant le métal

Pour surmonter les limitations présentées ci-dessus, nous avons tenté d'associer un ligand azoté donneur aux complexes cuivre-NHC. En effet, l'inspection des données obtenues par diffraction X des complexes $[\text{CuX}(\text{NHC})]$ nous révèle une géométrie linéaire de la partie $\text{C}_{(\text{Carbène})}\text{-Cu-X}$ et une faible distance Cu-X (2,1 Å pour X = Cl) typique des ligands σ -donneurs. Les effets d'accélération de la catalyse en conditions homogènes sont observés avec des ligands aromatiques azotés donneurs tels que la TBTA ou la phénanthroline. Dans les complexes de phénanthroline la géométrie du centre métallique est tétraédrique et non pas linéaire. Nous avons supposé que l'introduction de ligands azotés devrait, en augmentant la

densité électronique sur le métal, augmenter la distance Cu-Cl et rendre le complexe plus soluble en facilitant la formation d'un complexe cationique dans des solvants polaires. De plus, nous avons supposé que l'introduction de ce type de ligand devrait mener à un centre métallique tétraédrique plus propice à la catalyse tout en conservant la stabilité du cuivre vis-à-vis de l'oxydation. En résumé, nous espérons obtenir un catalyseur soluble, efficace et fonctionnant sans l'intervention d'un réducteur sacrificiel.

Nous avons sélectionné plusieurs hétérocycles azotés insaturés: la L-histidine, le *N*-méthylimidazole (NMI), la 4-diméthylaminopyridine (DMAP), la phénathroline (Phen) et la bathophénanthroline (Bathophen) pour évaluer leur influence sur le déroulement de la CuAAC catalysée par le $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène (Figure 122).¹⁹²



Entrée	Additifs (ratio)	Charge [mol %]	Temps [h]	T [°C]	Rendement [%]
1	non	1	18	20	10
2	L-histidine (1:1)	1	18	20	0
3	NMI (1:1)	1	18	20	76
4	NMI (1:2)	1	18	20	24
5	4-DMAP (1:1)	1	18	20	63
6	4-DMAP (1:2)	1	18	20	84
7	Phen (1:1)	1	18	20	78
8	Phen (1:1)	1	4	85	83
9	Phen (1:1)	0.1	72	50	73
10	Bathophen (1:1)	1	18	20	69

Figure 122. Criblage d'activité du complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ en présence d'additifs pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène.¹⁹²

Les résultats de la figure 122 montrent qu'en utilisant le $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ seul en solution nous obtenons un très faible rendement. Tandis que l'histidine semble avoir un effet délétère sur l'activité catalytique, l'addition d'un équivalent de NMI est bénéfique (entrée 3) et permet d'isoler le produit avec un bon rendement. Par contre, l'addition d'un second équivalent de NMI diminue l'efficacité (entrée 4) et fournit rapidement un composé rouge insoluble. Ceci

est peut être du à une oxydation du centre métallique par l'oxygène de l'air. Dans les cas où la DMAP est additionnée, le meilleur rendement est obtenu en présence de 2 équivalents de cette dernière (entrées 5 et 6). Un effet bénéfique est également observé avec les ligands bidentes phénanthroline (entrée 7) et bathophénanthroline (entrée 10). Dans ce cas, la réaction a lieu même dans des conditions plus dures (solvant est porté à reflux, entrée 8). Nous observons aussi que la réaction est efficace avec une charge en catalyseur de 0,1 mol %.

Nous avons également réussi à obtenir un monocristal du complexe [CuCl(Phen)(SIMes)] **95** analysable par diffraction des rayons X. (Figure 123) par addition d'éther éthylique sur une solution du complexe dans le dichlorométhane. Le cristal obtenu est de couleur rouge vif qui est la couleur classique des complexes de cuivre(I) avec la phénanthroline.

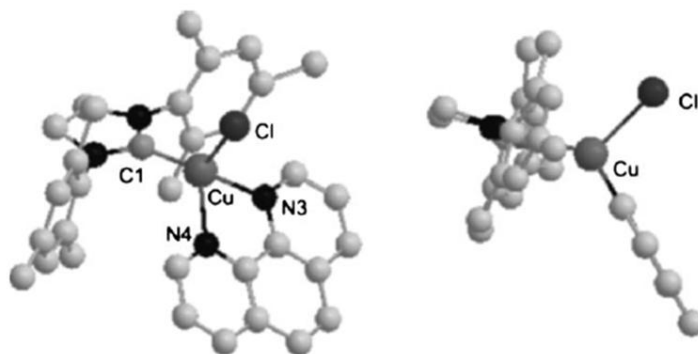


Figure 123. Différentes vues du complexe [CuCl(Phen)(SIMes)] **95**.¹⁹²

L'atome de cuivre au sein du complexe **95** adopte une géométrie distendue tétraédrique profondément différente de celle observée pour le [CuCl(SIMes)]. Le tableau présente les différents changements pour les longueurs et les angles de liaison.

Longueurs liaisons [Å]				
	Cu-Cl	Cu-N3	Cu-N4	Cu-C1
[CuCl(Phen)(SIMes)]	2.347(2)	2.114(5)	2.128(5)	1.916(7)
[CuCl(SIMes)]	2.099(1)	-	-	1.882(4)
Angles de liaisons [°]				
	N3-Cu-N4	N4-Cu-Cl	N3-Cu-Cl	C1-Cu-Cl
[CuCl(Phen)(SIMes)]	77.4(2)	99.9(1)	102.0(2)	120.5(2)
[CuCl(SIMes)]	-	-	-	178.5(1)

Tableau 9. Distances et angles représentatifs des complexes **95** et **91**.¹⁹²

Nous observons que si la liaison carbène-cuivre reste inchangée, la distance cuivre-chlore est allongée lorsque l'on passe du complexe **91** au complexe tétraédrique **95**.

Après avoir élucidé la structure du complexe à l'état solide nous avons essayé de connaître son comportement en solution.

Pour cela, nous avons tout d'abord utilisé la méthode de Job qui permet de déterminer la stœchiométrie d'un complexe en solution, si certaines conditions sont vérifiées, notamment si un seul complexe est prépondérant en solution. Nous avons tiré parti de l'absorption à 450 nm donnant sa couleur rouge au complexe. Le maximum de la courbe de Job se situant à 0,5, ce qui montre l'existence d'un complexe de stœchiométrie 1 :1 en solution (Figure 124).

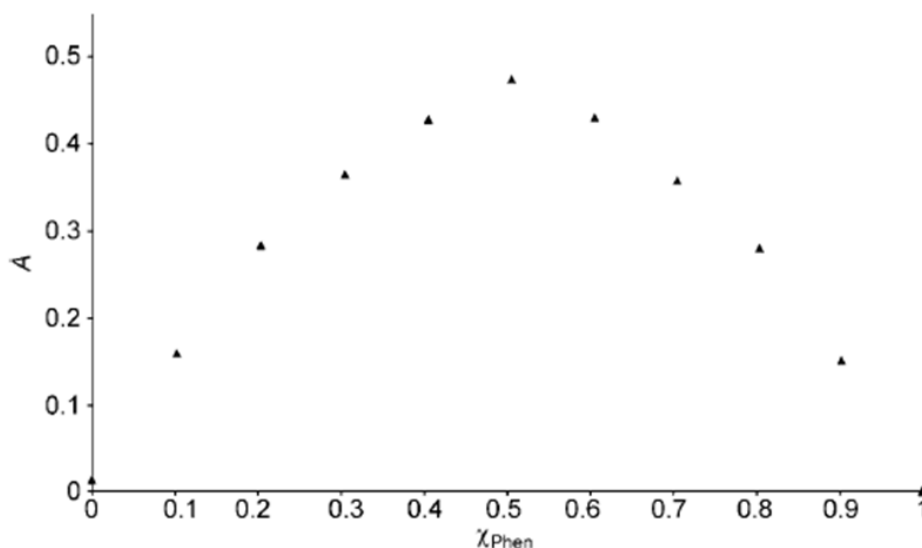


Figure 124. Job's plot pour déterminer la stœchiométrie du complexe 95 dans CH₂Cl₂.

Comme les phénanthrolines mènent à la formation de complexes en équilibre en solution, nous avons cherché à déterminer la constante d'association K (Figure 125). Ce travail a été réalisé par Marie-Laure Teyssot, ATER au laboratoire SEESIB. La méthode classique de titration a été utilisée, toujours en se basant sur la l'absorption caractéristique du complexe à 450 nm. L'équation correspondant à la formation d'un complexe de stœchiométrie 1 :1 a permis d'ajuster les données expérimentales, en utilisant le programme de régression non linéaire Gnuplot (Figure 126).¹⁹³

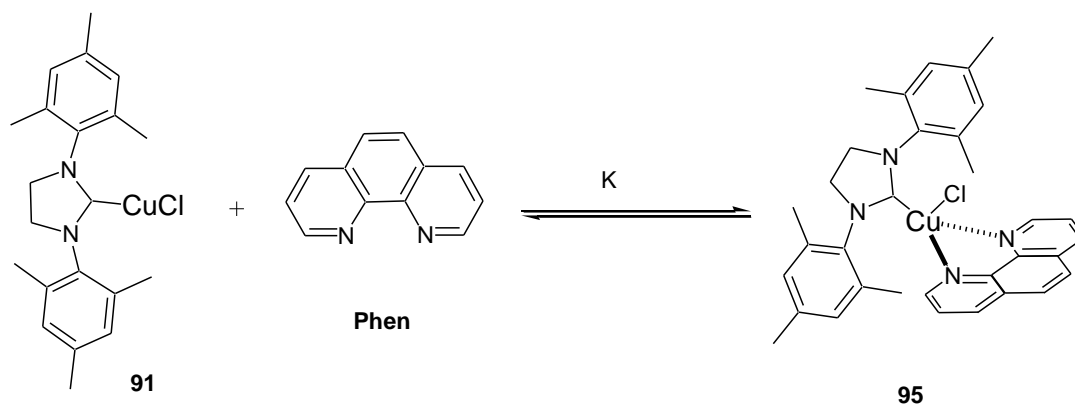


Figure 125. Equilibre en solution entre 91, Phen et 95.

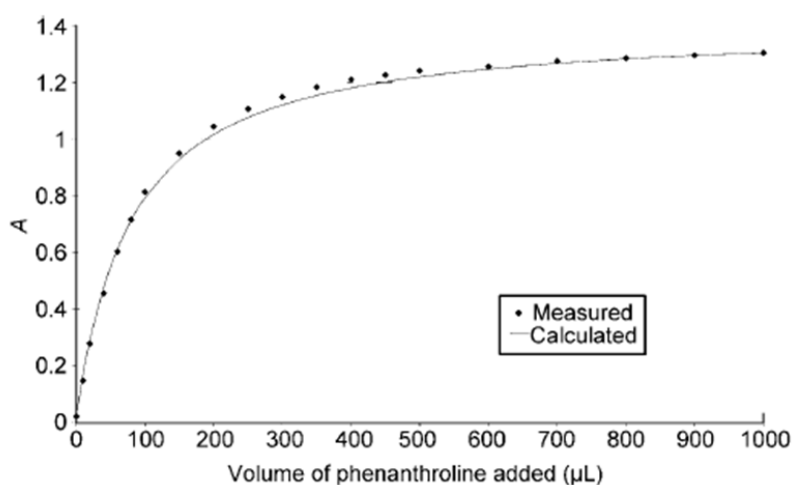


Figure 126. Courbe de titration du complexe 95 dans CH₂Cl₂.

Nos résultats montrent une constante d'association K d'environ 240 - 250 M^{-1} .

Cette constante d'association peut être considérée comme faible en comparaison avec les valeurs de la littérature reportées pour les complexes $[\text{Cu}(\text{phen})]^+$ et $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ ($K > 10^5 \text{ M}^{-1}$).¹⁹⁴ Cette faible association peut être due à un encombrement stérique entre la partie carbène et la phénanthroline ou à, un effet électronique entre ligands σ et π .

Néanmoins, cette association faible semble être un élément clé pour l'augmentation de la vitesse réactionnelle.

Le complexe [CuCl(Phen)(SIMes)] est difficilement cristallisable et se décompose en présence d'air après quelques semaines. De plus, sa durée de vie en solution, bien que supérieure à la durée d'une réaction CuAAC est relativement courte (environ 24h). Nous avons alors cherché à obtenir un autre catalyseur qui soit facilement cristallisable et stable sur le long terme. Pour cela, nous avons criblé d'autres combinaisons carbène de cuivre(I)-additif.¹⁷²

Entrée	Cuivre(I)-NHC (1mol %)	Additif	Rendement [%]
1	[CuCl(SIMes)]	non	10
2	[CuCl(SIMes)]	Phénanthroline	78
3	CuCl(IMes)]	non	15
4	CuCl(IMes)]	Phénanthroline	49
5	[CuCl(SIPr)]	non	0
6	[CuCl(SIPr)]	Phénanthroline	<10
7	[CuCl(IPr)]	non	0
8	[CuCl(IPr)]	Phénanthroline	<10

Tableau 10. Criblage d'activité des complexe cuivre(I)-NHC en présence ou non de phénanthroline pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène dans un mélange *tert*-butanol/eau (2:1) pendant 18 heures.¹⁷³

Il ressort que seuls [CuCl(SIMes)] et [CuCl(IMes)], en combinaison avec la phénanthroline sont capables de catalyser efficacement la réaction entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène (Tableau 10). Pour la suite, seul [CuCl(SIMes)] sera retenu.

Un nouveau criblage d'additifs a été réalisé en utilisant des ligands bidentes, dérivés de la phénanthroline et de la bipyridine, et des pyridines commerciales (Figure 127 et 128).¹⁷³

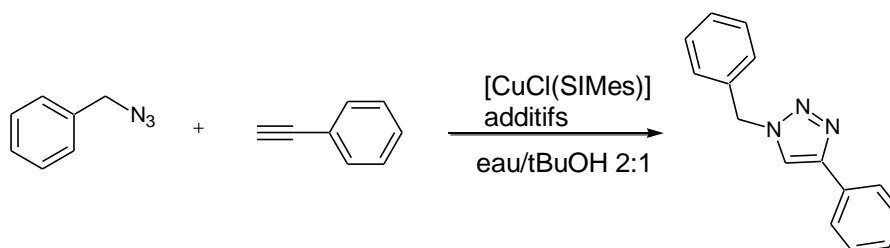


Figure 127. Criblage d'additifs pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène catalysée par le complexe [CuCl(SIMes)].

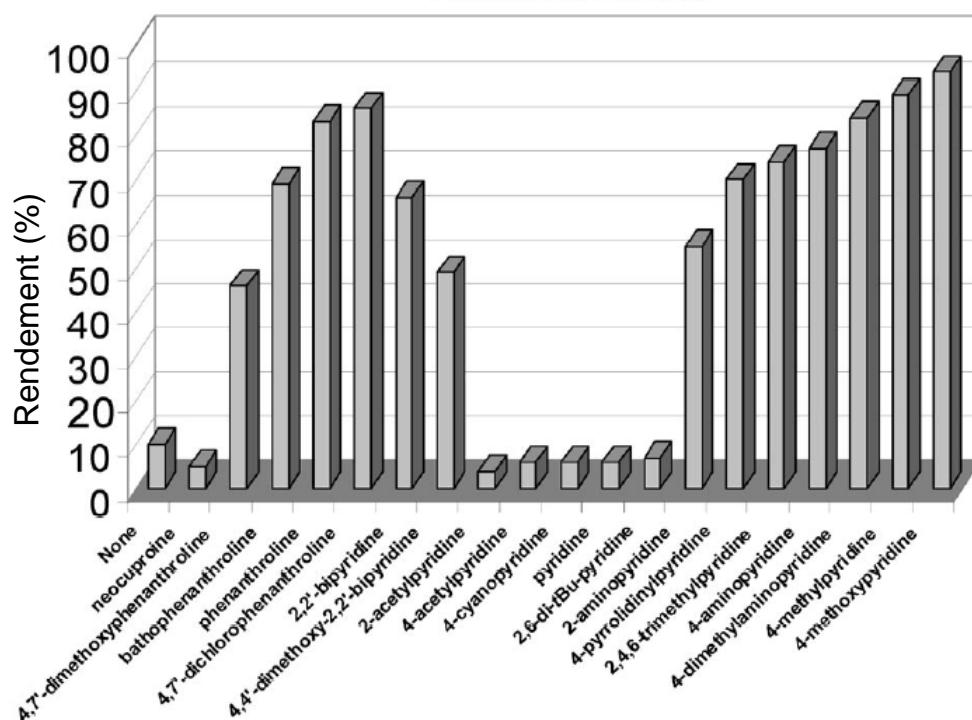


Figure 128. Résultats du criblage d'additifs pour la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène catalysée par le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$.¹⁷³

Les deux complexes $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(\text{Phen})]$ et $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(4,7\text{-dichloro-1,10-phénanthroline})]$ 96 nous sont apparus comme étant les plus efficaces à l'issue du criblage.

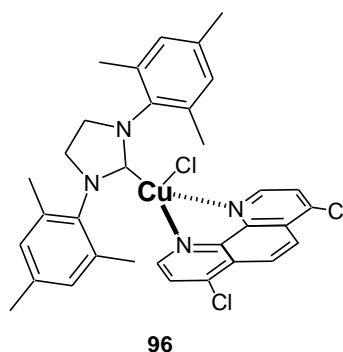


Figure 129. $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(4,7\text{-dichloro-1,10-phénanthroline})]$.

Dans la série de la phénanthroline, nous avons observé que les groupements électrodonneurs donnent des réactions rapides (quelques minutes) mais incomplètes. La présence d'un précipité rouge semble indiquer la décomposition du catalyseur en cours de réaction. L'introduction d'atomes de chlore, électroattracteurs, en position 4 et 7 provoque à l'inverse un léger ralentissement (quelques dizaines de minutes) de la réaction, mais une plus grande robustesse du système catalytique, la réaction s'avérant totale. Nous pensons que les atomes de chlore diminuent l'oxydabilité du catalyseur en présence d'air. Cette plus grande stabilité

redox du catalyseur est d'ailleurs confirmée par le fait qu'une solution de celui-ci dans le dichlorométhane ou le méthanol est stable sur une durée d'une à deux semaines.

Pour essayer d'avoir une meilleure vision sur l'efficacité du complexe **96**, la réaction de CuAAC a été réalisée dans différents solvants organiques en utilisant la même charge de catalyseur 1 mol % pendant 18 h (Figure 130). Comme nous pouvons le constater le **96** est efficace dans des solvants alcooliques (MeOH et EtOH), mais la réaction peut également avoir lieu dans le dichlorométhane. Par contre, l'efficacité est sensiblement réduite en présence de solvants polaires aprotiques comme le DMF et le DMSO.

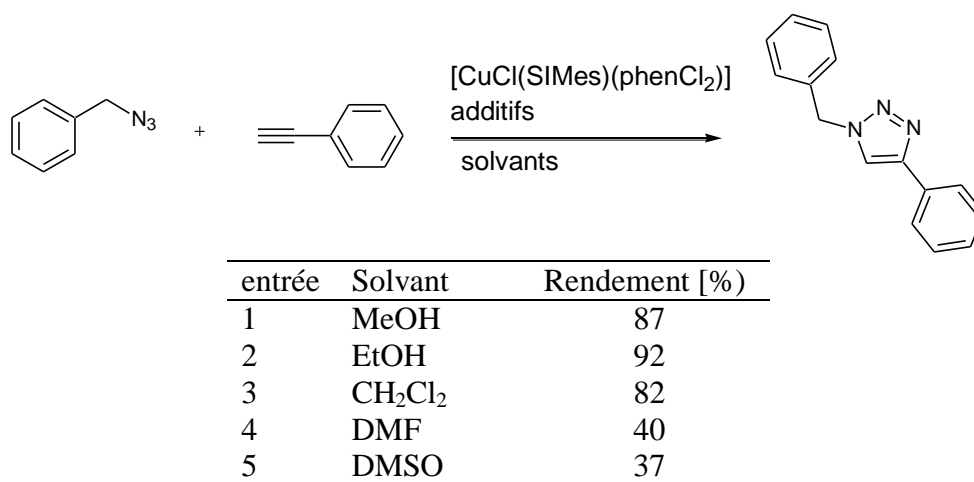


Figure 130 : Effet du solvant sur la réaction de CuAAC entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène catalysé par le complexe **96**.¹⁷³

Finalement, le complexe **96** a également été testé avec différentes collections d'azotures et d'alcynes dans le méthanol pour étudier sa tolérance à divers groupes fonctionnels (Figure 131).

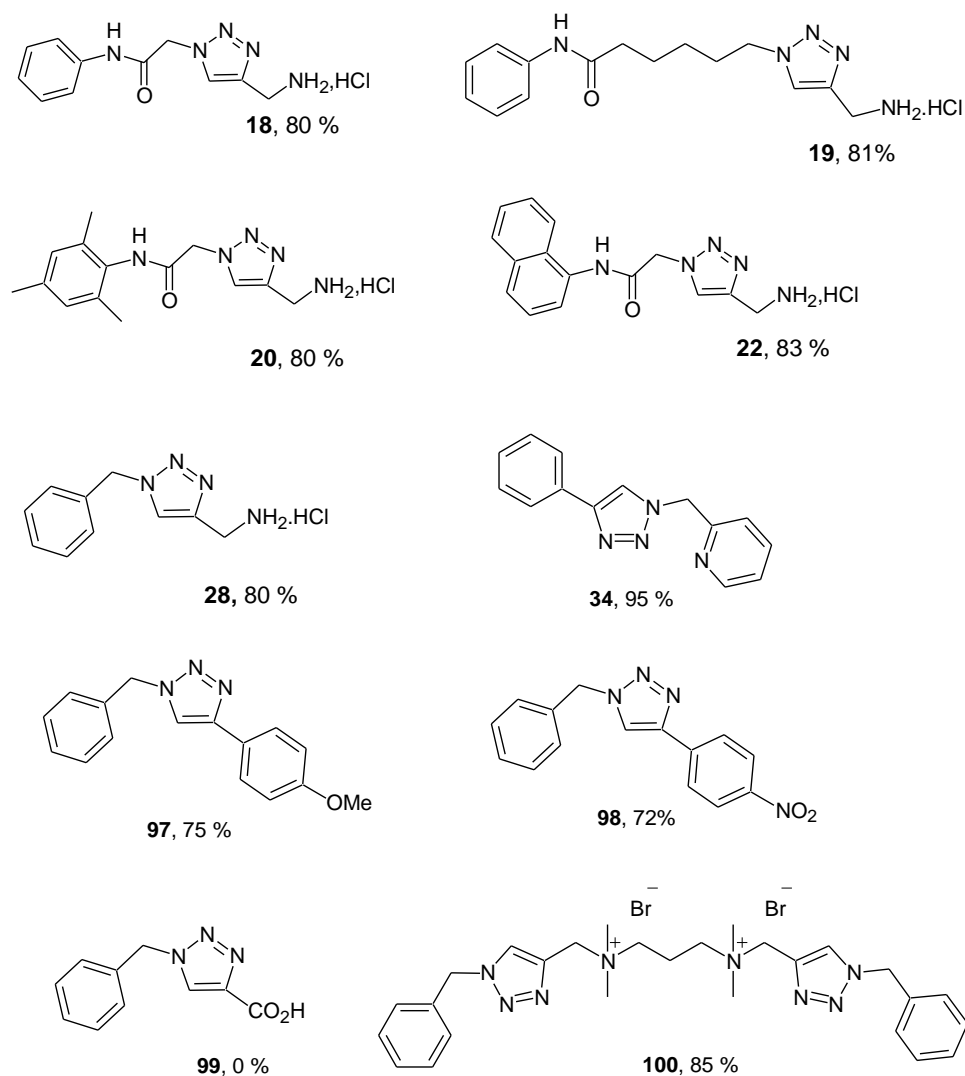


Figure 131. Exemples de triazole issus de la CuAAC catalysée par $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(\text{PhenCl}_2)]$.¹⁷³

Comme précédemment observé, les azotures aromatiques riches **97** ou pauvres **98** en électron sont bien tolérés. L'acide propiolique **99** a un effet délétère sur la réaction, probablement à cause de la protonation de la phénanthroline du catalyseur.

En conclusion, nous avons pu obtenir un catalyseur stable de CuAAC utilisable en solution alcoolique et ne nécessitant pas d'agent réducteur. Le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(4,7\text{-dichloro-1,10-phénanthroline})]$ est celui qui présente le plus d'avantages : il peut être obtenu facilement pour être conservé et ne s'oxyde pas en présence d'air. De plus, sa synthèse a pu être réalisée à l'échelle du multigramme (Pauline Labeaume, stagiaire BTS).

V.3. Toxicité du complexe cuivre(I)-NHC contre les cellules tumorales humaines, arrêt du cycle cellulaire, apoptose et induction de la coupure de l'ADN

Beaucoup de complexes de cuivre présentant des activités anticancéreuses réagissent avec l'oxygène *via* une réaction de type Fenton pour mener à la coupure des brins de l'ADN. Il s'agit entre autre des complexes cuivre-bléomycine, cuivre-bisphénanthroline et de leurs analogues clip-phen déjà présentés dans la partie bibliographique (I.2). Ces complexes où le cuivre est à l'état d'oxydation +2 nécessitent tous la présence d'un agent réducteur pour former l'espèce cuivre(I) impliquée dans le mécanisme de coupure.

Nous avons postulé que le complexe [CuCl(SIMes)] pouvait constituer une alternative. En effet, le cuivre se trouve déjà à l'état d'oxydation +1, ce qui devrait l'amener à pouvoir former des radicaux oxygénés sans réduction préalable. Le complexe est stable en lui-même mais, comme nous l'avons supposé dans la partie précédente, l'intervention de ligands azotés donneurs peut déclencher, en augmentant la densité électronique sur le métal, la formation de radicaux libres oxygénés. Les bases nucléiques pouvant être considérées comme des ligands donneurs azotés, nous devrions pouvoir induire des coupures de l'ADN bicaténaire.

V.3.1 Toxicité du complexe cuivre(I)-NHC

Dans un premier temps, l'effet du complexe [CuCl(SIMes)] sur la croissance cellulaire ont été analysés sur différents modèles de cancers humains (KB : carcinome oral, HL60 : leucémie, MCF-7 et MCF-7R : cancer du sein, LNCaP : cancer de la prostate). Les résultats, obtenus au laboratoire GReD et au centre propre du CNRS à Gif-sur-Yvette sont comparés à ceux obtenus avec le cisplatine que nous considérons comme la métallodrogue de référence. La figure 132 et le tableau 11 présentent les résultats des IC₅₀ du cisplatine et du [CuCl(SIMes)].¹⁹⁵

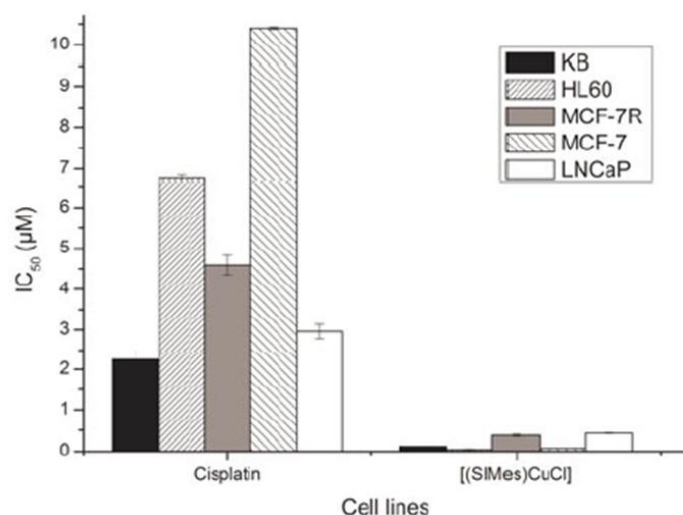


Figure 132. Comparaison des IC_{50} du cisplatine et du [CuCl(SIMes)] sur différentes lignées cellulaires.¹⁹⁵

Lignées cellulaires	Cisplatine	[CuCl(SIMes)]
KB	2.2 ± 0.2	0.12 ± 0.01
HL60	6.78 ± 0.08	0.04 ± 0.01
MCF-7R	4.49 ± 0.03	0.38 ± 0.03
MCF-7	10.4 ± 0.2	0.075 ± 0.002
LNCaP	2.9 ± 0.1	0.43 ± 0.01

Tableau 11. Valeurs des IC_{50} (μM) pour le cisplatine et le [CuCl(SIMes)] sur différents modèles de cancer humain.¹⁹⁵

Le complexe [CuCl(SIMes)] présente d'une manière générale une plus grande cytotoxicité que le cisplatine. Ceci est illustré par une augmentation de la cytotoxicité d'un facteur 140 et 150 pour les lignées HL60 et MCF-7 respectivement. De plus, on peut noter que le complexe [CuCl(SIMes)] présente une cytotoxicité inférieure au micromolaire, concentration comparable aux valeurs trouvées dans la littérature pour les complexes de cuivre [Cu^{I/II}(phen)₂] et Cu(Clip-phen).¹⁹⁶

Ensuite, au sein du laboratoire GReD, il a été mené une investigation pour mettre en évidence la nature des effets sur la lignée MCF-7 (cancer du sein) induits par le complexe **91**, toujours en comparaison avec ceux du cisplatine. Plusieurs paramètres ont été suivis pour étudier la progression du cycle cellulaire, notamment l'expression des régulateurs de la phase G1 : la protéine P21 et de la cycline D1. L'effet apoptotique a été analysé en suivant l'expression des protéines P53 (enzyme impliqué dans la régulation du cycle, l'apoptose et la réparation de l'ADN) et PARP (enzyme du noyau reconnaissant les coupures de l'ADN). La figure 133 présente les résultats des *western blot*.

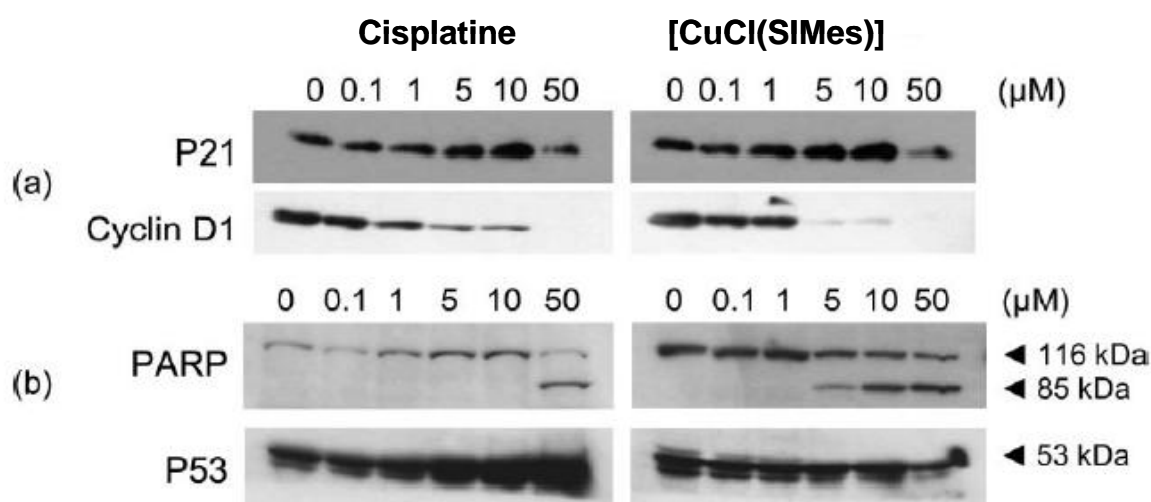


Figure 133. Analyse comparative des *western blots* de 91 et du cisplatine dans les cellules MCF-7 : a) effet sur la phase G1, b) effet sur l'apoptose.¹⁹⁵

L'effet du [CuCl(SIMes)] sur le cycle cellulaire est mis en évidence par l'accumulation dose-dépendante de P21 tandis que l'expression de la cycline D1 est fortement diminuée. Ces deux effets indiquent un arrêt du cycle en phase G1 qui intervient à des concentrations 10 fois plus faibles que celles observées pour le cisplatine. Afin de vérifier que le mode d'action de [CuCl(SIMes)] sur le cycle cellulaire diffère de celui du cisplatine, la phosphorylation de la protéine kinase cdc2 (pcdc2) qui est un marqueur d'un arrêt en phase G2 a été suivie dans les cellules. Pour le cisplatine, on observe la production dose-dépendante de pcdc2, contrairement au [CuCl(SIMes)] où cette expression n'est pas mise en évidence. Ces résultats nous ont permis définitivement d'écarter un arrêt du cycle en phase G2 dans le cas du [CuCl(SIMes)].¹⁹⁵

En considérant les effets des deux complexes sur l'apoptose, on remarque que seul le cisplatine induit une accumulation de P53 dans la cellule, les deux complexes sont capables d'induire une coupure protéolique de PARP en son fragment inactif caractéristique (85 KDa). Le [CuCl(SIMes)] induit une coupure de PARP à des concentrations 10 fois inférieures que celles mesurées pour le cisplatine.

En conclusion, l'ensemble des résultats montre que [CuCl(SIMes)] et le cisplatine ont des mécanismes cytotoxiques différents.

V.3.2 Induction de la coupure de l'ADN par le complexe cuivre(I)-NHC *in vitro*.

Tout d'abord, le complexe [CuCl(SIMes)] a fait l'objet d'une étude de réactivité avec des nucléosides isolés (A, G, T) dans un mélange DMSO-d₆/D₂O (1 :1). Nous n'avons noté aucune réaction entre ces nucléosides isolés et le métal-carbène. De même aucune réaction n'a été constatée vis-à-vis de notre *hairpin* qui reste intacte après un contact prolongé avec le complexe. Enfin, pour déterminer si l'ADN est une cible possible des metallocarbènes, nous avons examiné la génotoxicité *in vitro* sur le plasmide surenroulé pcDNA4TO de certains complexes synthétisés selon les méthodes reportées dans la littérature¹⁹⁷ et présentés dans la figure 134.

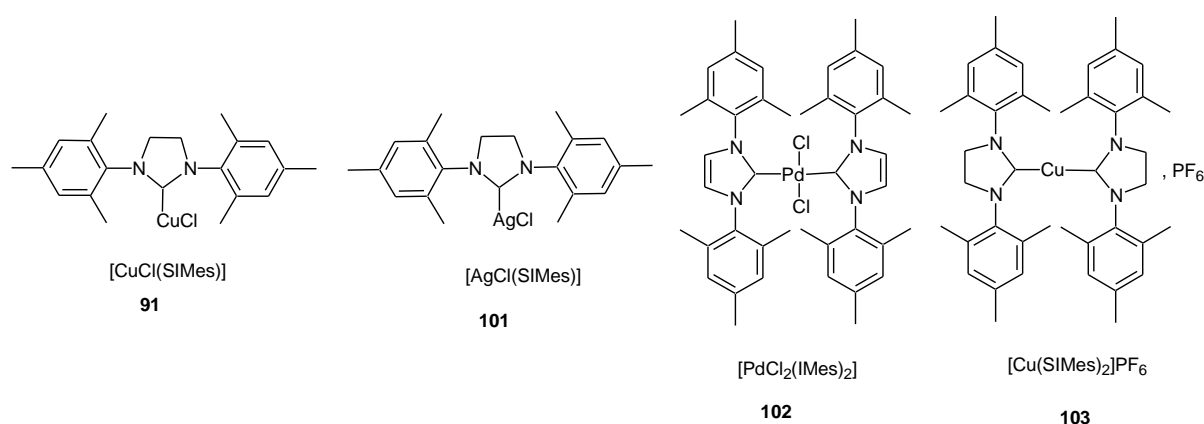


Figure 134. Complexes métal-carbène pour l'étude de génotoxicité *in vitro*.

Des expériences de relaxation du plasmide surenroulé en présence de metallocarbènes ont été réalisées dans un mélange eau/DMSO (9/1 v/v). Les résultats sont comparés à ceux obtenus dans le cas du cisplatine, qui est connu pour induire une relaxation. La figure 135 présente les résultats du gel d'électrophorèse qui permet d'identifier les différentes formes du plasmide (surenroulé, relaxé, ouverte et linéaire). La ligne 1 correspond au contrôle plasmide surenroulé. Ligne 2 correspond à la forme linéaire du plasmide obtenue après action de l'endonucléase BamH1. La ligne 3 correspond à l'action du cisplatine. Les lignes 4, 5, 6, 7 correspondent respectivement à l'action des complexes **91**, **101**, **102** et **103**.¹⁹⁵

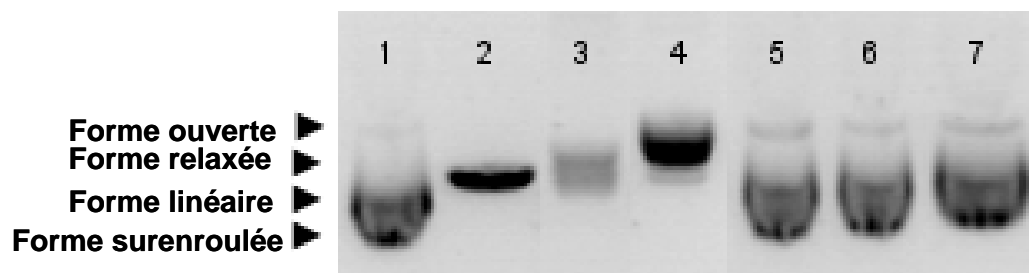


Figure 135. Gel d'électrophorèse (1% agarose) présentant l'action du cisplatine et des complexes **91**, **101**, **102** et **103** sur le plasmide surenroulé pcDNA4TO. 1) contrôle plasmide surenroulé, 2) plasmide linéarisé par BamHI, 3) action du cisplatine, 4) action du complexe **91**, 5) action du complexe **101**, 6) action du complexe **102**, 7) action du complexe **103**.

Au regard des résultats obtenus, le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ a une activité sur l'ADN plasmidique en permettant la relaxation de celui-ci sous sa forme circulaire ouverte. Par contre, on note une absence de réactivité pour les complexes contenant de l'argent ou du palladium. De plus, l'activité de coupure est absente pour le complexe homoleptique $[\text{CuCl}(\text{SIMes})_2]\text{PF}_6$ ce qui semble indiquer la nécessité d'une stœchiométrie cuivre-ligand 1 :1.

Il est important de noter que les réactions de coupure ont lieu en présence de DMSO, alors que ce dernier est un scavenger de radicaux hydroxyles. Les coupures n'étant pas inhibées, nous pouvons éliminer un processus passant par la formation de radicaux hydroxyles diffusables. Pour déterminer l'implication d'autres radicaux libres dans la réaction nous avons réalisé la même expérience en présence d'un inhibiteur de l'oxygène singulet (l'azoture de sodium) et également en présence de réducteurs (l'acide ascorbique et le glutathion).

Les résultats seront comparés à ceux obtenus avec le complexe cuivre phénanthroline. La figure 136 présente le gel d'électrophorèse obtenu après incubation du complexe métallique **91** avec le plasmide surenroulé selon différentes conditions et temps de réaction.

La ligne 1 correspond au contrôle plasmide surenroulé (blanc). En ligne 2 la forme linéaire est obtenue après action de l'endonucléase BamHI. Les lignes 3 et 4 correspondent à l'action de $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ sur le plasmide pendant respectivement 3 et 24 heures. La ligne 5 correspond à l'action de $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ sur le plasmide en présence de l'inhibiteur de $^1\text{O}_2$ NaN_3 . Les lignes 6 et 7 correspondent à l'action de **91** sur le plasmide pendant 3 heures en présence d'acide ascorbique et de glutathion (GSH) respectivement. La ligne 8 correspond à l'action du complexe $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ en présence de GSH avec le plasmide pendant 3 heures. Enfin, les lignes 9 et 10 correspondent à l'action du complexe **91** sur le plasmide en présence de GSH pendant respectivement 24 et 48 heures.¹⁹⁵

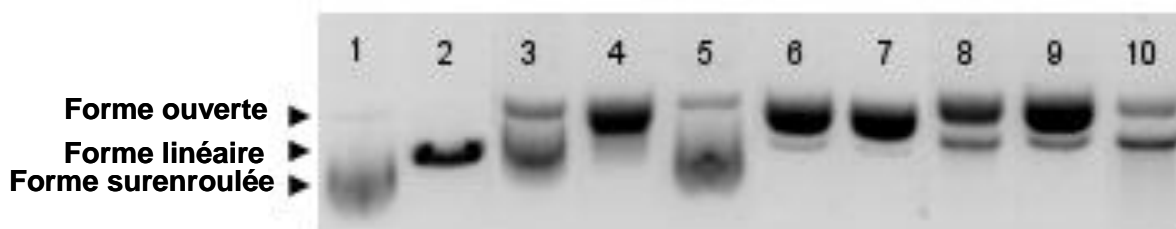


Figure 136. Expériences comparatives de la coupure oxydative du plasmide pcDNA4TO par le complexe $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ et le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$. 1) contrôle plasmide surenroulé, 2) plasmide linéarisé par BamHI, 3) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ 3h, 4) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ 24h, 5) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ + NaN_3 , 6) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ + acide ascorbique 3h, 7) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ + GSH 3h, 8) $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ + GSH 3h, 9) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ + GSH 24h, 10) $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ +GSH 48h.

La comparaison des lignes 3 et 4 montre que le phénomène de relaxation en forme circulaire ouverte peut être constaté dès 3h de réaction et se poursuit par la suite. Par contre, cette coupure est totalement inhibée par la présence d'azoture de sodium (ligne 5). A l'inverse, la réaction de coupure peut être fortement accélérée par la présence d'agents réducteurs, acide ascorbique et GSH, puisque les lignes 6 et 7 nous montrent la présence d'une forme circulaire ouverte dès 3h. A titre de comparaison, la ligne 8 montre un phénomène comparable en utilisant le couple $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ / glutathion, avec la formation d'une bande supplémentaire, sans doute assimilable à une forme linéarisée. Le même phénomène est observé pour le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ avec des temps supérieurs de 24 et 48 heures (respectivement lignes 9 et 10)

Ces expériences nous confirment que le complexe $[\text{CuCl}(\text{SIMes})]$ est capable de fonctionner sans l'intervention d'agent réducteur. Sa réactivité est plus lente que celle du complexe $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ réduit, mais elle conduit néanmoins en 24h à la conversion totale de la forme surenroulée en forme circulaire ouverte. L'inhibition du processus par l'azoture de sodium laisse à penser que l'oxygène singulet peut être un intermédiaire dans le processus réactionnel (ou que l'azoture se lie au centre métallique en modifiant son activité).

Etant donné qu'aucune réaction n'est notée sur notre hairpin, il semble probable que la structuration en double hélice de l'ADN est un pré-requis pour la réaction de coupure. Ceci est également observé dans le cas des complexes de phénanthroline où l'hétérocycle joue le rôle d'intercalant.

V.4. Conclusion

Dans ce dernier chapitre, nous nous sommes intéressés au complexe [CuCl(SIMes)], connu comme un catalyseur efficace pour la CuAAC. Dans un premier temps, nous avons réalisé un criblage d'activité de celui-ci en présence de différents additifs (hétéroaromatiques azotés). Deux ligands se sont révélés être efficaces : la 1,10-phénanthroline et la 4,7-dichloro-1,10-phénanthroline.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué la cytotoxicité et le mode d'action du complexe sur les cellules cancéreuses. Le mode d'action est apparu très différent de celui du cisplatine. Enfin, nous avons étudié l'interaction du complexe [CuCl(SIMes)] avec l'ADN. Ce dernier possède la capacité d'induire une coupure de l'ADN, sans la présence de réducteur. Cependant son activité est apparue plus faible que dans le cas du complexe Cu-cuivre phénanthroline réduit.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'une des motivations initiales de ce projet a été d'utiliser la réaction de CuAAC comme outil pour la synthèse de ligands 1,2,3-triazole afin d'obtenir de nouveaux complexes de platine(II) aux propriétés potentiellement différentes de celles du cisplatine. Nous avons opté pour une fonctionnalisation de l'unité triazole avec différentes chaînes comportant des groupements aromatiques susceptibles de s'insérer entre les bases de l'ADN. Nous avons également utilisé un espaceur aliphatique ou comportant des fonctions ammonium pour relier deux unités triazoles pour l'obtention de complexes binucléaires.

La première partie de nos travaux (chapitre II) s'inscrit donc dans ce contexte puisqu'elle nous a permis de mieux comprendre et d'optimiser les étapes clé de la synthèse impliquant la réaction de CuAAC pour différentes familles de composés. Nous avons réussi à suivre notre ligne directrice de départ pour l'ensemble de nos synthèses : nous avons utilisé des réactions simples et efficaces ne nécessitant pas de purification par chromatographie.

La deuxième partie de nos travaux (chapitre III) a concerné la synthèse des complexes. Nous avons réalisé la complexation du platine par nos ligands, en utilisant le sel K_2PtCl_4 . Malheureusement les complexes neutres formés se sont avérés être insoluble dans l'eau et peu soluble dans des solvants organiques. Les analyses RMN n'ont donc pu être réalisées et la structure des complexes n'a pu être élucidée. Les différentes stratégies employées pour obtenir des complexes cationiques solubles dans l'eau, n'ont pas mené, d'une manière générale, à la formation de produit unique. Trois complexes métalliques ont néanmoins été obtenus et caractérisés en vue de l'étude de leur interaction avec l'ADN.

D'autre part, la présence d'unités ammonium sur le pont espaceur entre les deux unités triazoles s'est révélée insuffisante pour donner une solubilité aqueuse suffisante aux complexes binucléaires.

Une fonctionnalisation de la partie triazole par des groupements hydrosolubles pourrait être envisagée afin d'obtenir des complexes plus facilement analysables.

Le troisième point clé de nos travaux a donc porté sur l'interaction des complexes de platine et de palladium avec l'ADN. Les études de métallation de la guanosine par les complexes clicks platiné et palladié ont permis de valider la formation d'adduits sur l'azote N7 des guanines. Les analyses RMN et de spectrométrie de masse ont confirmé la formation de complexes de stoechiométrie 1:2 (métal : guanosine). Les tests de réactivité avec un plasmide surenroulé ont permis de valider la fixation des complexes sur l'ADN bicaténaire, entraînant la relaxation du plasmide de manière similaire au cisplatine.

Enfin, l'étude menée sur les structures ADN en épingle à cheveux, avait pour objectif de déterminer la nature des adduits du platine. Le complexe **1** semble former majoritairement du mono-adduits alors que son dérivé aqua, plus réactif, forme de multiples produits indéterminés à ce jour. Il resterait à déterminer la présence de pontage inter- ou intra-brins.

Le travail réalisé en parallèle sur les différents aspects réactionnels du complexe [CuCl(SIMes)], nous a permis, dans un premier temps, d'améliorer le système catalytique par l'addition de ligands azotés donneurs, notamment des ligands bidentes de type phénanthroline. Les différentes études réalisées en diversifiant les substrats ont permis d'évaluer l'efficacité du système sur une large gamme de produits.

Les études concernant l'activité biologique du [CuCl(SIMes)], montrent que ce dernier a une plus grande cytotoxicité que le cisplatine. De plus, on peut noter que le complexe présente une cytotoxicité importante associée à une valeur d'IC₅₀ inférieure au micromolaire. Les investigations menées pour comprendre la nature des effets de [CuCl(SIMes)] sur la lignée MCF-7 à permis de mettre en évidence un arrêt du cycle cellulaire en phase G1, contrairement au cisplatine induisant un arrêt en phase G2. Concernant l'effet du complexe sur l'induction de l'apoptose, les résultats montrent, encore une fois, un mécanisme différent de celui du cisplatine.

Nos derniers travaux ont porté sur l'interaction des métallo-carbènes avec l'ADN. Il apparaît que le [CuCl(SIMes)] est capable d'induire une cassure de l'ADN différente de celle du cisplatine. Des tests réalisés, afin de mettre en évidence un mécanisme d'action, ont montrés une coupure de l'ADN par un mécanisme radicalaire similaire au complexe [Cu(Phen)]⁺.

En perspective à l'ensemble des études biologiques réalisées avec le complexe [CuCl(SIMes)], il serait intéressant d'approfondir le mécanisme d'action et de déterminer la cible cellulaire de ce dernier. Cet objectif reste actuellement à l'étude au laboratoire ainsi qu'un travail sur la vectorisation des complexes Cu(I)-NHC afin de mieux cibler les cellules cancéreuses.

PARTIE EXPERIMENTALE

1) Généralités

Les **points de fusion (PF)** ont été déterminés sur un microscope à plaque chauffante REICHTER et ne sont pas corrigés.

Les **spectres infrarouges (IR)** ont été réalisés sur un appareil SHIMADZU FTIR-8400S équipé d'un module ATR (échantillons utilisés purs). Les échantillons sont déposés purs sur un cristal de germanium. Les nombres d'onde (ν) sont exprimés en cm^{-1} .

Les **chromatogrammes HPLC** ont été réalisés sur un appareil DIONEX (TTC-100, pompes P580) à 25 °C couplé à un détecteur UVD340U. Les séparations ont été réalisées en phase inverse avec une colonne ACCLAIM 120 (C18, 5 μm , 120 Å, 4,6 x 250 mm) pour les nucléosides et une colonne Nucleosil (C18, 5 μm , 120 Å, 4,6 x 100 mm) pour l'analyse des hairpins. La purification par **HPLC préparative** a été effectuée sur un appareil VARIAN (pompe Prestar 218), couplé avec un détecteur à barrettes de diodes VARIAN ProStar 355RI. Les séparations en HPLC préparative sont réalisées avec une colonne inverse (C18, 8 μm , 250 x 41,4 mm).

Les **spectres de masse** sont réalisés en mode électrospray positif (**ESI⁺**) sur un spectromètre Qtof-micro WATERS (3000V) en utilisant une calibration interne (H_3PO_4). Les spectres de masse haute résolution (**ESI-HR-MS**) sont réalisés avec une calibration externe (leucine encéphaline $m/z = 556,2771$) pour des échantillons de bas poids moléculaire. Dans le cas de spectres de masse couplés à une chromatographie liquide (**LC-MS**), les séparations HPLC sont réalisées en phase inverse sur un système ALLIANCE WATERS (colonne C18, 5 μm , 100 mm x 2,1 mm) couplé à un détecteur à barrettes de diodes.

Les **spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)** ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AVANCE 400 (1H : 400 MHz, 13C : 100 MHz) ou BRUKER AVANCE 500. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en parties par million (ppm), en prenant pour référence le signal résiduel du solvant deutéré utilisé, qui est précisé dans chaque cas. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (HZ).

Les **Analyses Élémentaires (AE)** ont été réalisées sur un analyseur élémentaire Thermo Finnigan EA112, équipé d'une colonne chromatographique Porapak. Les éléments dosés sont

C, H, N. Les résultats sont fournis avec une précision absolue de 0,2 % et sont validés pour deux essais minimum. Ces analyses ont été réalisées par le service de Microanalyse de Vandoeuvre-les-Nancy (UMR 7565, Université Henri Poincaré, Nancy).

Les **analyses sur gel d'électrophorèse** ont été réalisées sur un appareil RunOne Système EMBI TEC (voltage : 50 V).

2) Procédures générales

Procédure générale d'acylation des amines

A une solution d'amine (10 mmol ; 1 équiv.) dans un mélange H₂O/AcOEt 1/1 v/v (50 mL) à 0°C (bain de glace) est ajouté NaOH (10 mmol ; 1 équiv.), puis, goutte-à-goutte du chlorure d'acyle (10 mmol ; 1 équiv.). Après une heure d'agitation à température ambiante, les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (2 x 20 mL). Les phases organiques rassemblées sont lavées successivement par une solution aqueuse de soude 1M (2 x 30 mL), de l'eau (2 x 30 mL) et HCl aqueux 1M (2 x 30 mL). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée sous vide. Le produit est obtenu sous la forme d'un solide suffisamment pur pour être utilisé sans purification supplémentaire.

Procédure générale de la préparation des azotures

A une solution d'halogénure d'alkyle (5,0 mmol ; 1 équiv.) dans un mélange eau/éthanol 9/1 v/v (10 mL) sont additionné successivement à température ambiante : du chlorure d'ammonium (20 mmol ; 4 équiv.), de l'iodure de sodium (10 mol%) et de l'azoture de sodium (25 mmol ; 5 équiv.). Le mélange est agité pendant 24h à 80°C, puis, après retour à température ambiante, extrait par de l'acétate d'éthyle (3 x 20 mL). Les phases organiques combinées sont lavées par l'eau (2 x 20 mL), séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le produit est obtenu sous la forme d'un solide.

Procédure générale de la cycloaddition 1,3-dipolaire (CuAAC)

Procédure a

A une solution d'azoture (1,0 mmol ; 1 équiv.) dans un mélange eau/tBuOH 1/1 v/v (3 mL) sont ajoutés, à température ambiante, l'alcyne (1,0 mmol ; 1 équiv.), puis une solution de CuSO₄/THPTA 0,1 M (100 µL ; 0,01 mmol ; 1 mol %) et enfin une solution d'acide

ascorbique 0,1M (300 μ L ; 0,03 mmol ; 3 mol %). Après 12 heures, le mélange est évaporé sous vide, puis repris dans l'éthanol (5 mL) avant addition de HCl concentré. Le précipité formé est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'éthanol (3 mL), puis avec de l'éther (3 mL) pour obtenir le chlorhydrate du 1,2,3-triazole attendu.

Procédure b

A une solution d'azoture (1,0 mmol ; 1 équiv.) dans un mélange eau/tBuOH 1/1 v/v (3 mL) sont ajoutés, à température ambiante, l'alcyne (1 mmol ; 1 équiv.), puis une solution de $\text{CuSO}_4/\text{THPTA}$ 0,1 M (100 μ L ; 0,01 mmol ; 1 mol %) puis une solution d'acide ascorbique 0,1M (300 μ L ; 0,03 mmol ; 3 mol %). Après 12 heures, le mélange est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'eau (3 mL), puis avec de l'éther (3 mL) pour obtenir le 1,2,3-triazole attendu.

Procédure c

A une solution d'azoture (1,0 mmol ; 1 équiv.) dans 3 mL de méthanol est ajouté l'alcyne (1,0 mmol ; 1 équiv.), puis le $[\text{CuCl}(\text{SIMes})(\text{phenCl}_2)]$ sous forme solide (2 mol %). Après 12 heures, le mélange est évaporé sous vide, puis repris dans l'éthanol (5 mL) avant addition de HCl concentré. Le précipité formé est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'éthanol (3 mL), puis avec de l'éther (3 mL) pour obtenir le chlorhydrate du 1,2,3-triazole attendu avec une pureté satisfaisante.

Procédure générale pour la préparation des complexes de platine

A une solution de K_2PtCl_4 (0,15 mmol ; 1 équiv. ou 0,30 mmol ; 2 équiv.: selon si le complexe voulu est mono- ou binucléaire) dans 800 μ L d'eau distillée est ajouté goutte-à-goutte une solution de chlorhydrate du triazole ou du bis-triazole (0,15 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800 μ L) et basifiée avec une solution aqueuse de KOH 1M (0,15 mmol ; 1 équiv. par chlorhydrate). Le mélange est agité à température ambiante et dans l'obscurité pendant 12 heures. Le précipité est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'eau (5 mL), puis avec de l'éthanol (5 mL) et de l'éther pour obtenir le complexe de platine(II) sous la forme d'un solide.

Procédures générales pour les tests de réactivité des complexes avec le plasmide surenroulé.

Tests avec les complexes de platine

Les solutions de complexes de platine et du cisplatine ($3 \cdot 10^{-4}$ M) sont préparées respectivement dans le DMF et l'eau. 1 μ L de chaque solution est additionné à 1,4 μ g de plasmide pcDNA4T0 en présence de 30 μ L de NaClO_4 (10^{-3} M). Après 24 h d'incubation à 37 °C, les échantillons sont analysés sur gel d'agarose 1% et révélés avec du BET sous lampe UV.

Tests avec les métallo-NHC

Les solutions mères de métallo-NHC ($3 \cdot 10^{-4}$ M) sont préparées dans le DMSO. 1 μ L de chaque solution est additionné à 1,6 μ g de plasmide pcDNA4T0 en présence de 30 μ L d'une solution aqueuse de NaClO_4 (10^{-3} M). Après 24 h d'incubation à 37 °C, les échantillons sont analysés sur gel d'agarose 1% et révélés avec du BET sous lampe UV.

Les concentrations en inhibiteur et agent réducteur sont NaN_3 : 0,1 M ; acide ascorbique : $2,5 \cdot 10^{-5}$ M ; GSH : 10^{-4} M. Pour la référence $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, la concentration en CuSO_4 est de 10^{-5} M et en phénanthroline de 10^{-4} M.

Procédures générales pour les tests de réactivité des complexes avec l'ADN structuré en épingle à cheveux (« hairpin »)

« Annélation » de l'ADN, structuration en épingle à cheveux

Avant de procéder au test de métallation, l'ADN doit être structuré en épingle à cheveux par hybridation du brin autocomplémentaire. 20 μ L d'une solution d'ADN à 0,86 mM dans l'eau sont placés pendant 5 minutes dans un bain marie à 90 °C pour réaliser une dénaturation. Enfin, l'échantillon est laissé à température ambiante pendant 2 heures. La renaturation se fait doucement afin de favoriser le repliement de la boucle sur elle même.

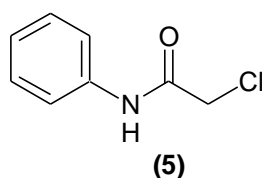
Tests avec les complexes de platine

Les solutions de complexe de platine **1** ($2 \cdot 10^{-2}$ M) et du cisplatine ($2 \cdot 10^{-3}$ M) sont préparées respectivement dans le DMF et l'eau. 1 μ L de la solution de **1** et 10 μ L de la solution de cisplatine sont additionnés à 17,2 nmoles d'hairpin en présence de 100 μ L de NaClO_4 ($10 \cdot 10^{-3}$ M). Après 24 h d'incubation à température ambiante, on additionne 100 μ L d'une solution saturée de NaCl. Les échantillons sont ensuite analysés par HPLC.

Tests avec les complexes aqua de platine

Le complexe aqua de **1** est préparé dans 2,5 mL d'eau à partir de **1** (25,0 mg ; 0,055 mmol ; 1 équiv.) et d'AgNO₃ (19,0 mg ; 0,11 mmol ; 2 équiv.). Le complexe aqua dérivé du cisplatine est préparé dans 5 mL d'eau à partir du cisplatine (35,0 mg ; 0,11 mmol ; 1 équiv.) et d'AgNO₃ (37,0 mg ; 0,22 mmol ; 2 équiv.). Les réactions se font à température ambiante sur 2 jours et à l'obscurité. Le chlorure d'argent formé est filtré à l'aide d'un filtre Millipore. Les filtrats, contenant les complexes aqua sont directement utilisés pour réagir avec l'Hairpin.

1 µL des solutions ($2 \cdot 10^{-2}$ M) des complexes aqua est additionné à 17,2 nmoles d'hairpin en présence de 100 µL de NaClO₄ ($10 \cdot 10^{-3}$ M). Après 24 h d'incubation à température ambiante, on additionne 100 µL d'une solution saturée de NaCl. Les échantillons sont ensuite analysés par HPLC.

2) Produits obtenus**2-Chloro-N-phénylacétamide (C₈H₈ClNO) M = 169.61 g/mol**

Le composé **5** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant l'aniline (1,000 g ; 10,73 mmol), et le chlorure de chloroacétyle (1,210 g ; 10,73 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (1,450 g ; 8,56 mmol) avec un rendement de 80 %.

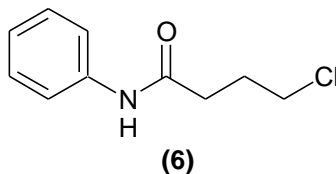
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.30 (s, 1H, NH), 7.54 (d, J = 7.9 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.35 (dd, J = 7.9 Hz, J = 7.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.16 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H_{Ar}), 4.16 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ : 163.8, 136.6, 129.0, 125.1, 120.1, 42.8.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3267, 3207, 3144, 3101, 1668, 1612, 1558, 1249, 856, 754.

PF: 136-137 °C (littérature: 134-137 °C)

*Données en accord avec celles de la littérature.*¹⁹⁸



Anilide de l'acide 4-chloro-butyrique (C₁₀H₁₂ClNO) M = 197.66 g/mol

Le composé **6** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant l'aniline (1,000 g ; 10,73 mmol) et le chlorure de 4-chlorobutyryle (1,510 g ; 10,73 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (1,818 g ; 9,15 mmol) avec un rendement de 85 %.

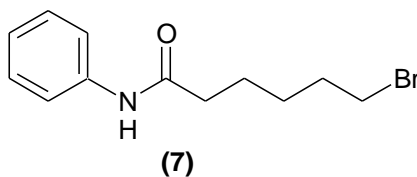
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.00 (s, 1H, NH), 7.50 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.28 (dd, J = 7.7 Hz, J = 7.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.09 (t, J = 7.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 3.59 (t, J = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 2.51 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 2.15 (tt, J = 6.2 Hz, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ : 170.4, 137.6, 128.8, 124.3, 120.0, 44.3, 33.9, 27.9.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3323, 2821, 1666, 1600, 1535, 1176, 746.

PF: 64-66 °C (littérature: 69-70°C)

Données en accord avec celles de la littérature.¹⁹⁹



Anilide de l'acide 6-bromo-hexanoïque (C₁₂H₁₆BrNO) M = 270.17 g/mol

Le composé **7** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant l'aniline (1,000 g ; 10,73 mmol) et le chlorure de 6-bromo hexanoyle (2,290 g ; 10,73 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (2,200 g ; 8,21 mmol) avec un rendement de 76 %.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.76 (s, 1H, NH), 7.51 (d, J = 7.9 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.29 (dd, J = 7.4 Hz, J = 7.9 Hz 2H, H_{Ar}), 7.09 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H_{Ar}), 3.37 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH₂),

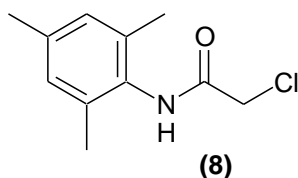
2.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH₂), 1.85 (tt, $J = 6.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz 2H, CH₂), 1.72 (tt, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.7$ Hz 2H, CH₂), 1.53-1.43 (tt, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz 2H, CH₂).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ : 171.3, 137.8, 128.8, 124.2, 119.9, 37.2, 33.5, 32.3, 27.6, 243.6.

IR (ν , cm⁻¹, ATR) : 3336, 2939, 1664, 1597, 1523, 1438, 1247, 754, 727.

PF : 82-83 °C (littérature: 84-86 °C)

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁰



2,4,6-Triméthylanilide de l'acide chloroacétique (C₁₁H₁₄ClO) M = 211.69 g/mol

Le composé **8** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant la 2,4,6-triméthyl-phénylamine (1,000 g ; 7,39 mmol) et le chlorure de chloroacétyle (0,834 g ; 7,39 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (1,097 g ; 5,18 mmol) avec un rendement de 70 %.

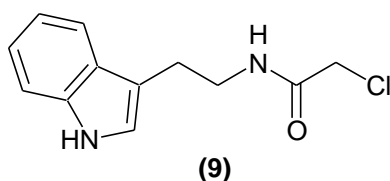
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.82 (s, 1H, NH), 6.90 (s, 2H, H_{Ar}), 4.20 (s, 2H, CH₂), 2.27 (s, 3H, CH₃), 2.18 (s, 6H, CH₃).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ : 164.6, 137.5, 135.0, 130.0, 129.0, 42.7, 20.9, 18.1.

IR (ν , cm⁻¹, ATR) 3230, 3039, 2920, 1670, 1539, 1240, 844, 709.

PF : 181-182 °C (littérature: 178-179 °C)

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰¹



2-Chloro-N-[2-(1H-indol-3-yl-éthyl)]acétamide (C₁₂H₁₃ClN₂O) M = 236.70 g/mol

Le composé **9** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant : la tryptamine (0,480 g ; 3,00 mmol) et le chlorure de chloroacétyle (0,339 g ; 3,00 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide violet (0,427 g ; 1,80 mmol) avec un rendement de 60 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.81 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$), 8.30 (s, 1H, NH_{amide}), 7.53 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.15 (s, 1H, H_{Ar}), 7.06 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, H_{Ar}), 6.98 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1H, H_{Ar}), 4.08 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 3.41-3.35 (m, 2H, CH_2), 2.84 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2).

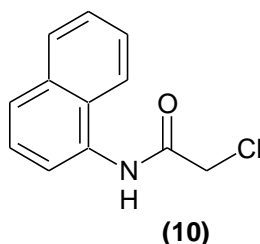
RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.8, 136.2, 127.2, 122.7, 120.9, 118.3, 118.2, 111.5, 111.4, 42.7, 39.9, 24.9.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3308, 1654, 1637, 1456, 1261, 1097, 1006, 925, 773, 740.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClON}_2+\text{Na}]^+$ 259.0614 ; trouvé 259.0617 (1.1 ppm).

PF : 91-92 °C (littérature : 92-93 °C)

Données en accord avec celles de la littérature.²⁰²



2-Chloro-N-naphthalèn-1-yl-acétamide ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}$) $M = 219.67$ g/mol

Le composé **10** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant : la 1-naphthylamine (1,000 g ; 6,98 mmol) et le chlorure de chloroacétyle (0,788 g ; 6,98 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (1,105 g ; 4,99 mmol) avec un rendement de 71 %.

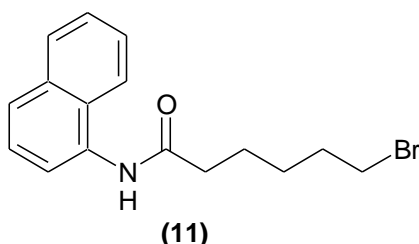
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.77 (s, 1H, NH), 7.97 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.92 – 7.83 (m, 2H, H_{Ar}), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.60 – 7.47 (m, 3H, H_{Ar}), 4.33 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) δ : 164.3, 134.0, 131.0, 128.8, 126.9, 126.6, 126.4, 126.1, 125.6, 120.5, 120.1, 43.2.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3255, 3051, 1664, 1556, 1506, 1398, 1348, 813, 790, 769.

PF : 163-164 °C (littérature : 155-157 °C)

Données en accord avec celles de la littérature.²⁰³



Naphthalèn-1-ylamide de l'acide 6-bromohexanoïque (C₁₆H₁₈BrNO) M = 320.22 g/mol

Le composé **11** est obtenu en appliquant la procédure générale d'acylation des amines en utilisant la 1-naphthylamine (1,000 g ; 6,98 mmol) et le chlorure de 6-bromohexanoyle (1,490 g ; 6,98 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (2,078 g ; 6,49 mmol) avec un rendement de 93 %.

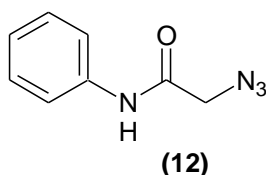
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.03 (s, 1H, NH), 7.83-7.78 (m, 2H, H_{Ar}), 7.69-7.63 (m, 2H, H_{Ar}), 7.48-7.40 (m, 2H, H_{Ar}), 7.38-7.33 (m, 1H, H_{Ar}), 3.33 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH₂), 2.33 (t, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 1.77 (tt, J = 6.7 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 1.69 – 1.58 (m, 2H, CH₂), 1.43 – 1.35 (m, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ : 172.0, 133.9, 132.2, 128.4, 127.6, 126.0, 125.9, 125.8, 125.4, 121.6, 121.1, 36.7, 33.6, 32.2, 27.6, 24.7.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3240, 3055, 1653, 1541, 1504, 783, 761.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₆H₁₈BrNO+H]⁺ 320.0650 ; trouvé 320.0649 (-0.3 ppm).

PF : 89-90 °C.



2-Azido-N-phényl-acétamide (C₈H₈N₄O) Mw = 176.18 g/mol

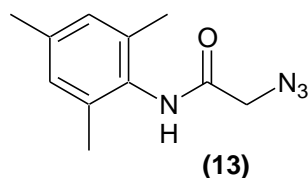
Le composé **12** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **5** (1,000 g ; 5,89 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,850 g ; 4,82 mmol) avec un rendement de 81 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.19 (s, 1H, NH), 7.52 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.32 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_{Ar}), 4.06 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) δ : 164.7, 136.6, 128.9, 124.9, 120.1, 52.7.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3265, 3207, 3142, 3090, 2104, 1674, 1602, 1552, 1301, 1255, 754.

Données en accord avec celles de la littérature.²⁰⁴



2-Azido-N-(2,4,6-triméthyl-phényl)-acétamide ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$) $M = 218.26$ g/mol

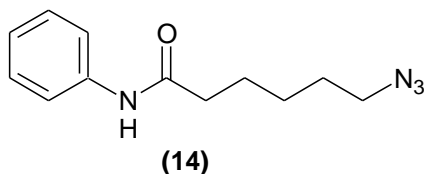
Le composé **13** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **8** (1,120 g ; 5,29 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,877 g ; 4,02 mmol) avec un rendement de 75 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.56 (s, 1H, NH), 6.90 (s, 2H, H_{Ar}), 4.17 (s, 2H, CH_2), 2.26 (s, 3H, CH_3), 2.17 (s, 6H, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.2, 137.3, 134.8, 130.0, 128.9, 52.5, 20.8, 18.0.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3228, 3043, 2106, 1666, 1541, 1483, 1249, 854.

Données en accord avec celles de la littérature.²⁰¹



Anilide de l'acide 6-azido-hexanoïque ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$) $M = 232.28$ g/mol

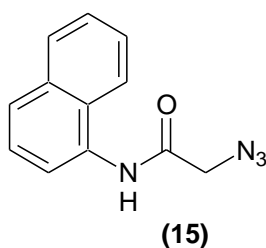
Le composé **14** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **7** (1,000 g ; 3,70 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,657 g ; 2,82 mmol) avec un rendement de 76 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.8 (s, 1H, NH), 7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.28 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.08 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_{Ar}), 3.23 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2), 2.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), 1.71 (tt, $J = 7.7$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2), 1.58 (tt, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2), 1.5 – 1.3 (tt, $J = 7.7$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 171.2, 137.8, 128.8, 124.1, 119.9, 51.1, 37.2, 28.4, 26.2, 24.9.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) 3302, 2941, 2864, 2094, 1666, 1602, 1552, 1440, 1315, 785.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}+\text{Na}]^+$ 255.1222 ; trouvé 255.1211 (-4.2 ppm).



2-Azido-N-naphthalèn-1-yl-acétamide ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$) $M = 226.23$ g/mol

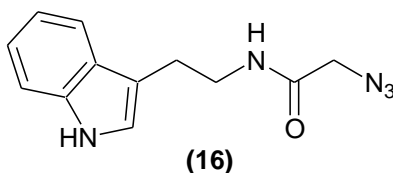
Le composé **15** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **10** (1,000 g ; 4,53 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (0,796 g ; 3,50 mmol) avec un rendement de 77 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (s, 1H, NH), 7.98 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.89 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.60 – 7.46 (m, 3H, H_{Ar}), 4.29 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.1, 133.9, 131.1, 128.6, 126.8, 126.4, 126.1, 126.0, 125.5, 120.5, 120.3, 52.9.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3282, 3055, 2094, 1656, 1546, 1504, 1253, 798, 775.

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁴



2-Azido-N-[2-(1H-indol-3-yl-éthyl)]acétamide ($\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$) $M = 243.26$ g/mol

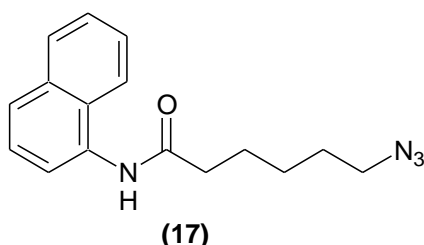
Le composé **16** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **9** (0,350 g ; 1,47 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,321 g ; 1,32 mmol) avec un rendement de 90 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.81 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$), 8.20 (s, 1H, NH_{amide}), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.06 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H), 3.80 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}_3$), 3.41-3.35 (m, 2H, CH_2), 2.84 (t, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.1, 136.2, 127.2, 122.7, 120.9, 118.3, 118.2, 111.5, 111.4, 50.9, 39.6, 25.0.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3390, 3281, 2119, 1653, 1640, 1543, 1457, 1423, 1286, 1224, 1096, 1000, 802, 739.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ON}_5+\text{H}]^+$ 244.1198 ; trouvé 244.1198 (-0.1 ppm).



Naphthalèn-1-ylamide de l'acide 6-Azido-hexanoïque du ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$) $M = 282.34$ g/mol

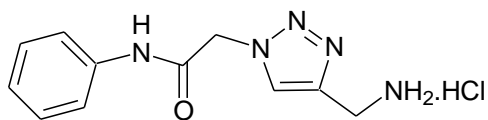
Le composé **17** est synthétisé en suivant la procédure générale de la préparation des azotures au départ de **11** (1,000 g ; 3,12 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (0,825 g ; 2,92 mmol) avec un rendement de 93 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.0 (s, 1H, NH), 7.8 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.70 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.65 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.49 – 7.31 (m, 3H, H_{Ar}), 3.18 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2), 2.34 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2), 1.72 – 1.61 (m, 2H, CH_2), 1.58 – 1.46 (m, 2H, CH_2), 1.41- 1.29 (m, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 134.1, 132.4, 128.6, 127.7, 126.1, 125.9, 125.9, 125.5, 121.7, 121.1, 51.2, 36.9, 28.5, 26.3, 25.2.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) 3284, 3051, 2939, 2862, 2085, 1653, 1535, 1273, 785.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}+\text{H}]^+$ 283.1559 ; trouvé 283.1552 (-2.4 ppm).



(18)

2-(4-Aminométhyl-[1,2,3]triazole-1-yl)-N-phényl-acétamide (C₁₁H₁₄ClN₅O) M = 267.11g/mol

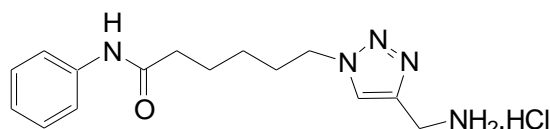
Le composé **18** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **12** (0,200 g ; 1,13 mmol) et de la propargylamine (0,063 g ; 1,13 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,230 g ; 0,86 mmol) avec un rendement de 75 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 10.79 (s, 1H, NH), 8.46 (s, 2H, NH₂), 8.23 (s, 1H, H_{triazole}), 7.62 – 7.08 (m, 5H, H_{Ar}), 5.42 (s, 2H, CH₂), 4.14 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 164.0, 139.9, 138.5, 128.4, 126.0, 123.7, 119.2, 53.3, 33.9.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3267, 3205, 3120, 3076, 3001, 1676, 1604, 1556, 1261, 866, 756.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₁H₁₃N₅O+H]⁺ 232.1198 ; trouvé 232.1192 (-2.7 ppm) ;



(19)

Chlorhydrate de l'anilide de l'acide 6-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazole-1-yl)-hexanoïque (C₁₅H₂₂ClN₅O) M = 323.82 g/mol

Le composé **19** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **14** (0,150 g ; 0,65 mmol) et de la propargylamine (0,036 g ; 0,65 mmol). On obtient le composé attendu sous forme d'un solide beige (0,089 g ; 0,27 mmol) avec un rendement de 42 %.

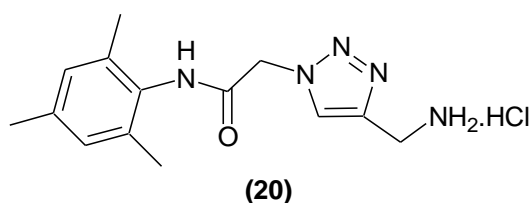
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.00 (s, 1H, NH), 8.44 (s, 3H, NH₃), 8.18 (s, 1H, H_{triazole}), 7.60 (d, J = 7.9 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.27 (dd, J = 7.9 Hz, J = 7.3 Hz 2H, H_{Ar}), 7.00 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H_{Ar}), 4.40 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 4.08 (s, 2H, CH₂), 2.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.83 (tt, J

= 7.0 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 1.61 (tt, J = 7.3 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 1.25 (tt, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 171.0, 140.0, 139.3, 128.5, 124.3, 122.8, 119.0, 49.2, 36.0, 33.8, 29.5, 25.4, 24.4.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) 3263, 3126, 2999, 2939, 2901, 2872, 1654, 1599, 1541, 1500, 1444, 1161, 756.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₅H₂₁N₅O+H]⁺ 288.1824 ; trouvé 288.1814 (-3.6 ppm).



Chlorhydrate du 2-(4-aminométhyl-[1, 2, 3]triazole-1-yl)-N-(2,4,6-triméthyl-phényl)-acétamide
(C₁₄H₂₀ClN₅O) M = 309.79 g/mol

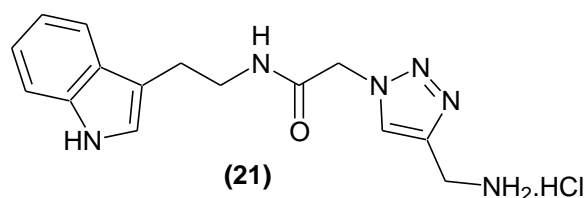
Le composé **20** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **13** (0,150 g ; 0,68 mmol) et de la propargylamine (0,038 g ; 0,68 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,128 g ; 0,41 mmol) avec un rendement de 60 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 9.97 (s, 1H, NH), 8.54 (s, 3H, NH₃), 8.24 (s, 1H, H_{triazole}), 6.87 (s, 2H, H_{Ar}), 5.45 (s, 2H, CH₂), 4.12 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 2H, NH₂), 2.21 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 6H, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 163.9, 139.9, 135.6, 134.7, 131.6, 128.3, 125.9, 51.6, 33.8, 20.4, 18.3.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3281, 3130, 3014, 1670, 1529, 1236, 848.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₄H₁₉N₅O+H]⁺ 274.1668 ; trouvé 274.1673 (1.9 ppm).



Chlorhydrate du 2-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazole-1-yl)-N-[2-(1H-indol-3-yl)-éthyl]-acétamide
(C₁₅H₂₀Cl₂N₆O) M = 371.26g/mol

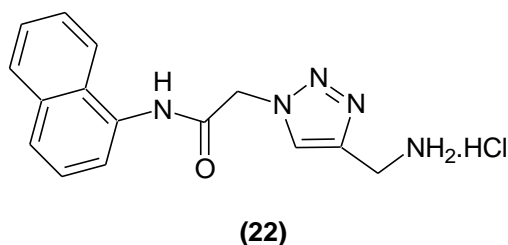
Le composé **21** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **16** (0,122 g ; 0,50 mmol) et de la propargylamine (0,028 g ; 0,50 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,100 g ; 0,27 mmol) avec un rendement de 53 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 10.88 (s, 1H, NH_{indole}), 8.59 (s, 1H, H_{triazole}), 8.44 (s, 2H, NH₂), 8.15 (s, 1H, NH_{amide}), 7.52 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.06 (dd, J = 8.0 Hz, J = 7.5 Hz, 1H) 6.97 (t, J = 7.9 Hz, J = 7.5 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H, CH₂), 4.13 (s, 2H, CH₂), 3.49-3.26 (m, 2H, CH₂), 2.86 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 165.1, 144.3, 139.9, 136.2, 127.1, 125.9, 122.8, 120.9, 118.3, 118.2, 111.4, 51.8, 33.9, 31.3, 25.0.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3392, 3272, 3068, 3002, 2937, 1676, 1655, 1573, 1457, 1424, 1374, 1225, 1147, 1094, 1057, 874, 799, 739.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₅H₁₈ON₆+H]⁺ 299.1620 ; trouvé 299.1617 (-1.1 ppm).



Chlorhydrate du 2-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazole-1-yl)-N-naphthalèn-1-yl-acétamide
(C₁₅H₁₆ClN₅O) M = 317.77 g/mol

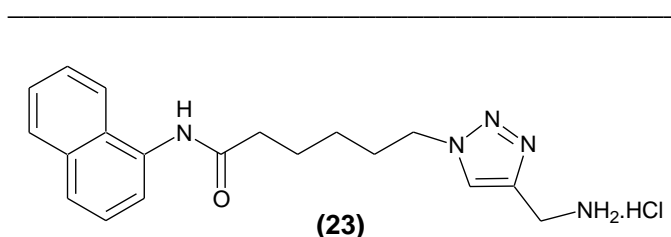
Le composé **22** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **15** (0,200g ; 0,88 mmol) et de la propargylamine (0,049 g ; 0,88 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (0,190 g ; 0,60 mmol) avec un rendement de 67 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.69 (s, 1H, NH), 8.32 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.27 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.95 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.70 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.65-7.54 (m, 2H, H_{Ar}), 7.54-7.46 (m, 1H, H_{Ar}), 5.64 (s, 2H, CH_2), 4.3-4.1 ($s_{\text{élargi}}$, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ 165.1, 140.4, 133.7, 132.8, 128.1, 127.6, 126.1, 126.01, 125.7, 125.5, 122.8, 121.5, 52.2, 34.0.

IR (ν , cm^{-1} , film) 3254, 3221, 3119, 3045, 1676, 1546, 802, 773.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}+\text{H}]^+$ 282.1355 ; trouvé 282.1365 (3.6 ppm).



Chlorhydrate du naphthalèn-1-ylamide de l'acide 6-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazole-1-yl)-hexanoïque ($\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}$) $M = 373.88$ g/mol

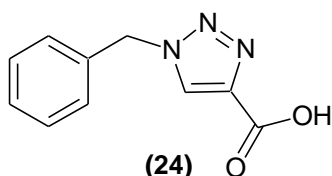
Le composé **23** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **17** (0,150g ; 0,53 mmol) et de la propargylamine (0,029 g ; 0,53 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide rose (0,094 g ; 0,25 mmol) avec un rendement de 47 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.97 (s, 1H, NH), 8.50 (s, 3H, NH_3), 8.21 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.05 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.92 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.75 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.65 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.58 – 7.43 (m, 3H, H_{Ar}), 4.43 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 4.08 (s, 2H, CH_2), 2.30 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1.88 (tt, $J = 7.0$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), 1.69 (tt, $J = 7.3$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), 1.35 (tt, $J = 7.5$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ 171.7, 140.0, 133.6, 128.0, 127.7, 125.9, 125.7, 125.5, 125.0, 124.3, 122.7, 121.6, 49.3, 35.6, 33.8, 29.6, 25.5, 24.6.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) 3286, 3124, 2943, 2864, 1658, 1521, 1502, 775.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}+\text{H}]^+$ 338.1981 ; trouvé 338.1990 (2.7 ppm).



Acide 1-Benzyl-1H-[1, 2, 3] triazole-4-carboxylique (C₁₀H₉N₃O) M = 203.20 g/mol

Le composé **24** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure b*) au départ de l'azoture de benzyle (0,200 g ; 1,50 mmol) et de l'acide propiolique (0,105 g ; 1,50 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,216 g ; 1,06 mmol) avec un rendement de 71 %.

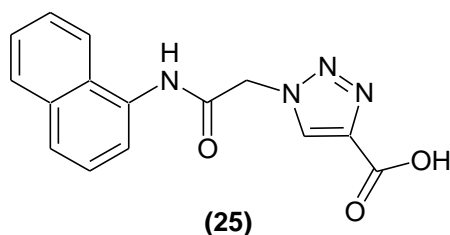
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 13.11 (s, 1H, OH), 8,78 (s, 1H, H_{triazole}), 7,42 – 7,28 (m, 5H, H_{Ar}), 5.65 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 161.9, 140.2, 135.8, 129.3, 129.1, 128.5, 128.3, 53.3;

IR (ν, cm⁻¹, ATR) 3115, 1681, 1253, 1234, 1051, 715.

PF :191-192 °C (198-200°C)

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁵



**Acide 1-(Naphthalèn-1-ylcarbamoylméthyl)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxylique (C₁₅H₁₂N₄O₃)
M = 296.28 g/mol**

Le composé **25** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure b*) au départ de **11** (0,200 g ; 0,88 mmol) et de l'acide propiolique (0,062 g ; 0,88 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,210 g ; 0,71 mmol) avec un rendement de 80 %.

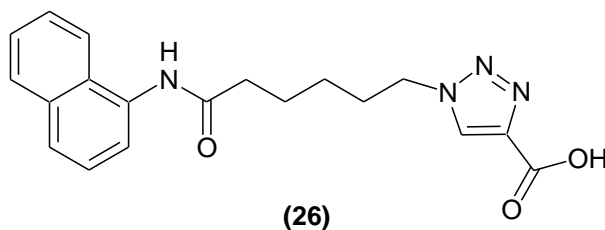
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 13.14 (s, 1H, OH), 10.47 (s, 1H, NH), 8.75 (s, 1H, H_{triazole}), 8.17 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.96 (d, J = 7,5 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.71 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.65 – 7.46 (m, 3H, H_{Ar}), 5.61 (s, 2H, CH₂).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.8, 161.7, 139.5, 133.7, 132.6, 130.7, 128.2, 127.5, 126.2, 126.0, 125.7, 125.5, 122.6, 121.5, 52.1.

IR (ν , cm^{-1} , film) : 3300, 3134, 1693, 1674, 1535, 1437, 1244, 804, 775.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{-H}]^+$ 295.0831 ; trouvé 295.0836 (1.6 ppm).

PF : 225-227 $^{\circ}\text{C}$.



Acide 1-[-5-(Naphthalèn-1-ylcarbamoyl)-pentyl]-1H-[1,2,3] triazol-4-carboxylique ($\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$)
M = 352.39 g/mol

Le composé **26** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure b*) au départ de **13** (0,200 g ; 0,71 mmol) et de l'acide propiolique (0,050 g ; 0,71 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (0,159 g ; 0,42 mmol) avec un rendement de 60 %.

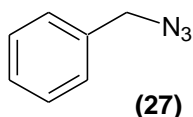
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.06 (s, 1H, OH), 9.85 (s, 1H, NH), 8.72 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.02 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.92 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.74 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.64 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.57-7.43 (m, 3H, H_{Ar}), 4.44 (m, 2H, CH_2), 2.40 (m, 2H, CH_2), 1.92 (m, 2H, CH_2), 1.69 (m, 2H, CH_2), 1.33 (m, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.7, 161.7, 139.6, 133.6, 128.8, 128.0 ; 127.7 ; 125.9, 125.7, 125.5, 125.0, 124.7, 122.7, 121.7, 49.5, 35.6, 29.3, 25.4, 24.7.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3368, 3286, 3126, 2561, 1693, 1656, 1529, 1240, 1045, 781.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3+\text{Na}]^+$ 375.1433 ; trouvé 375.1440 (1.8 ppm).

PF : > 230 $^{\circ}\text{C}$.



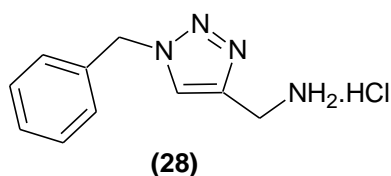
Azoture de benzyle ($\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3$) M = 133.15 g/mol

A une suspension de chlorure de benzyle (10,000 g ; 79,00 mmol ; 1 équiv.) dans 20 mL d'eau sont ajoutés successivement l'azoture de sodium (5,500 g ; 85,00 mmol ; 1,1 equiv.) puis le chlorure d'ammonium (5,00 g ; 93,00 mmol ; 1,2 équiv.) sous agitation. Le mélange est ensuite chauffé à 70 °C pendant 48 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est extrait dans l'éther (3 x 20 mL), les phases organiques sont rassemblées et séchées avec du sulfate de magnésium, filtrées et évaporées sous pression réduites pour obtenir **27**, liquide incolore (10,20 g ; 76,60 mmol) avec un rendement de 97 %.

RMN ¹H (CDCl₃) δ : 7.27-7.38 (m, 5H, H_{Ar}), 4.35 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ : 54.6, 128.1-128.7 (6 C).

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁶



Chlorhydrate de la C-(1-benzyl-1H-[1,2,3]triazol-4-yl)méthylamine
(C₁₀H₁₅ClN₄) M = 224.69 g/mol

Le composé **28** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de l'azoture de benzyle **27** (3,000 g ; 22,52 mmol) et de la propargylamine (1,240 g ; 22,52 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (3,730 g ; 16,6 mmol) avec un rendement de 74 %.

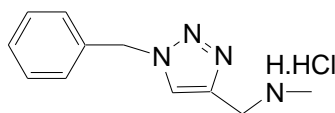
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.53 (s, 3H, NH₃), 8.26 (s, 1H, H_{triazole}), 7.45-7.25 (m, 5H, H_{Ar}), 5.65 (s, 2H, CH₂), 4.07 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) : δ 140.5, 135.9, 128.7, 128.2, 128.0, 124.6, 52.8, 33.8.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3282, 3066, 2999, 2569, 1654, 1587, 1496, 1460, 1226, 1178, 1141, 1087, 1055, 1030, 873, 717.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₁H₁₄N₄+H]⁺ 203.1297 ; trouvé 203.1286 (5.0 ppm).

*Données en accord avec celles de la littérature.*¹⁶³



(29)

Chlorhydrate de la (1-benzyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ylmethyl)-méthylamine
(C₁₁H₁₅ClN₄) M = 238.72 g/mol

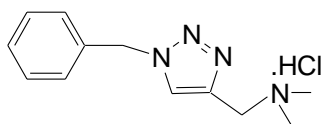
Le composé **29** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) en utilisant l'azoture de benzyle **27** (0,200 g ; 1,50 mmol) et la *N*-méthylpropargylamine (0,104 g ; 1,50 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,151 g ; 0,63 mmol) avec un rendement de 42 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 9.41 (s, 2H, NH₂), 8.32 (s, 1H, H_{triazole}), 7.41 – 7.28 (m, 5H, H_{Ar}), 5.66 (s, 2H, CH₂), 4.19 (s, 2H, CH₂), 2.52 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 138.7, 135.8, 128.7, 128.2, 127.9, 125.7, 52.8, 42.2, 31.7.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3132, 2939, 2777, 2422, 1450, 1045, 719.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₁H₁₄N₄+H]⁺ 203.1297 ; trouvé 203.1286 (5.3 ppm).



(30)

Chlorhydrate de la (1-Benzyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ylmethyl)-diméthylamine
(C₁₂H₁₇ClN₄) M = 252.74 g/mol

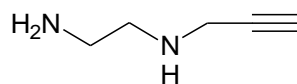
Le composé **28** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) en utilisant l'azoture de benzyle **27** (0,400 g ; 3,00 mmol) et la diméthyl-prop-2-ynylamine (0,257 g ; 3,00 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,478 g ; 1,89 mmol) avec un rendement de 63 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 8.39 (s, 1H, H_{triazole}), 7.41 – 7.30 (m, 5H, H_{Ar}), 5.67 (s, 2H, CH₂), 4.36 (s, 2H, CH₂), 2.69 (s, 6H, CH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 137.0, 135.7, 128.7, 128.1, 127.9, 127.1, 52.9, 50.1, 41.2.

IR (ν , cm^{-1} , film) : 3128, 3010, 2987, 2576, 2519, 2463, 1458, 1224, 1051, 721.

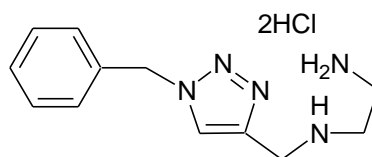
HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4+\text{H}]^+$ 217.1453 ; trouvé 217.1458 (2.2 ppm).



(31)

N1-prop-2-ynyl-éthane-1,2 diamine ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2$) $M = 98.15$ g/mol

A une solution de bromohydrate de 2-bromo-éthanamine (0,500 g ; 2,44 mmol ; 1,0 équiv.) dans l'eau (1,5ml) est ajouté la propargylamine (0,269 g ; 4,88 mmol ; 2,0 équiv.). Le mélange est mis à reflux pendant 3 heures. Après réaction et retour à température ambiante, on additionne NaOH (0,195 g ; 4,88 mmol ; 2,0 équiv.), puis on évapore l'eau sous vide. Le mélange est repris dans l'eau, puis évaporé une nouvelle fois pour éliminer l'excès de propargylamine. Le produit **31** est conservé tel quel en vue d'une réaction de CuAAC.



(32)

Dichlorhydrate de la N1-(1-benzyl-1H-[1,2,3]triazol-4-yl)méthyl-éthane-1,2diamine
($\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_5$) $M = 304.22$ g/mol

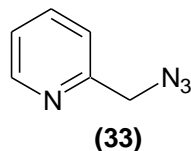
Le composé **32** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **27** (1,300 g ; 9,76 mmol) et de **31** brut (0,470 g ; 9,76 mmol). On obtient le composé attendu après une recristallisation dans l'éthanol sous la forme d'un solide beige (1,150 g ; 3,78 mmol) avec un rendement de 39 %.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ 8.21 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.45 – 7.38 (m, 5H, H_{Ar}), 5.66 (s, 2H, CH_2), 4.48 (s, 2H, CH_2), 3.46 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2), 3.43 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ 137.6, 134.5, 129.1, 128.8, 128.2, 126.6, 54.0, 43.5, 41.8, 35.0.

IR (ν , cm^{-1} , film) 3105, 3063, 2941, 2897, 2735, 2696, 2578, 2414, 1602, 1521, 1450, 1024, 721.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5+\text{H}]^+$ 232.1562 ; trouvé 232.1543 (-8.3 ppm).



2-Azidométhylpyridine ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4$) $M = 134.14$ g/mol

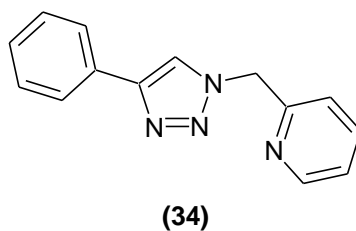
A une solution de 2-chlorométhylpyridine (3.280 g ; 20,00 mmol ; 1,0 équiv.) dans 6 ml de DMF sont additionnés successivement à température ambiante : le 18-crown-6 (5 mg), l'iodure de sodium (100 mg), la diisopropyléthylamine (3,4 mL) et l'azoture de sodium (1,560 g ; 24,00 mmol ; 1,2 équiv.). Après 24 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est dilué dans l'acétate d'éthyle (50 mL). La phase organique est lavée avec une solution de NaCl/NaOH ($\text{pH} > 10$) (3 x 50 mL), puis avec une solution saturée de NH_4Cl (50 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite pour obtenir le composé **33**, liquide incolore (2,153 g ; 16,00 mmol) avec un rendement de 80 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.57 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.71-7.66 (m, 1H, H_{Ar}), 7.27-7.26 (m, 1H, H_{Ar}), 7.23-7.19 (m, 1H, H_{Ar}), 4.45 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 167.1, 155.7, 149.6, 137.0, 122.9, 121.9, 55.6.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) 3067, 3005, 2098, 1676, 1591, 1473, 1437, 1341, 1272, 1149, 1048, 966, 886, 754.

*Données en accord avec celles de la littérature.*¹³²



2-((4-Phényl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)méthyl)pyridine ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4$) $M = 236.27$ g/mol

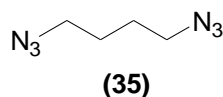
A une solution de **33** (0,134 g ; 1,00 mmol, 1,0 équiv.) dans le *tert*-butanol, sont ajoutés successivement, le phénylacétylène (0,102 g ; 1,0 mmol ; 1,0 équiv.), puis l'acétate de cuivre(II) (11 mg ; 60 μ mol ; 5 mol %). Après 24 heures, le *tert*-butanol est évaporé sous pression réduite, le mélange est repris dans l'eau puis extrait dans le dichlorméthane (2 x 10 ml). Les phases organiques sont rassemblées et lavées avec une solution saturée de NH_4Cl , et de NaCl saturée et séchées sur MgSO_4 avant leur évaporation sous pression réduite. Le composé **34**, est obtenu sous la forme d'un solide beige clair (0,224 g ; 0,95 mmol) avec un rendement de 95 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ : 8.66 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.56 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H_{Ar}), 7.88-7.81 (m, 3H, H_{Ar}), 7.45-7.42 (m, 2H, H_{Ar}), 7.37-7.31 (m, 3H, H_{Ar}), 5.76 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ : 154.9, 149.4, 146.4, 137.3, 130.6, 128.7, 127.8, 125.1, 123.2, 122.2, 122.1, 54.5.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3122, 3093, 3046, 1698, 1591, 1481, 1438, 1223, 1192, 1078, 1049, 768.

*Données en accord avec celles de la littérature.*¹³²



1,4-Diazidobutane ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_6$) $M = 168.20$ g/mol

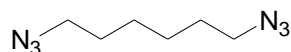
A une solution de 1,4-dibromobutane (4,320 g ; 20,0 mmol, 1 équiv.) dans l'acétonitrile (50mL) sont additionnés le bromure de tétrabutylammonium (1.32 g ; 4.0 mmol ; 0,2 équiv.), le NaI (200 mg), puis NaN_3 (6,500 g ; 100,00 mmol ; 5 équiv.). Le mélange est agité à 85°C pendant 12 heures. Le mélange est évaporé sous vide et repris dans l'eau (20 mL) puis extrait dans l'éther (4 x 20 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporé pour obtenir **35**, liquide incolore (2,550 g ; 18,22 mmol) avec un rendement de 91 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.22 (t, $J = 6.2$ Hz, 4H, CH_2), 1.68 (quint, $J = 3.5$ Hz, 4H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 51.1, 26.3.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 2940, 2873, 2092, 1465, 1350, 1256, 730.

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁷



(36)

1, 6-Diazidohexane (C₆H₁₂N₆) M = 168.20 g/mol

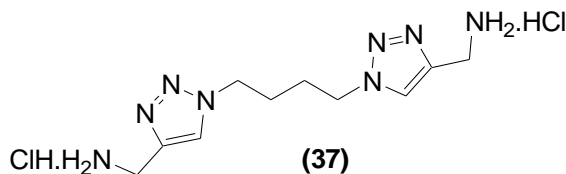
Le composé **36** est obtenu selon la procédure précédemment décrite pour **35** au départ du 1,6-dibromo-hexane (1,500 g ; 6,14 mmol) et NaN₃ (2,000 g ; 30,70 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un liquide incolore (0,800 g ; 4,75 mmol) avec un rendement de 77 %.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.15 (t, J = 6.9 Hz, 4H, CH₂), 1.52 – 1.46 (m, 4H, CH₂), 1.32 – 1.27 (m, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 50.8, 28.3, 25.87.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 2939, 2862, 2090, 1456, 1348, 1284, 1257, 729.

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁷



(37)

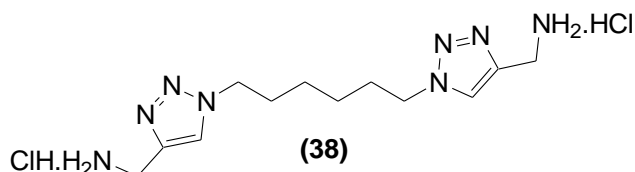
Dichlorhydrate de la C-{1-[4-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazol-1-yl)-butyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-yl]-méthylamine (C₁₀H₂₀Cl₂N₈) M = 323.23 g/mol

Le composé **37** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **40** (0,140 g ; 1,00 mmol ; 1 équiv.) et de la propargylamine (0,110 g ; 2,00 mmol ; 2 équiv.). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide jaune ocre (0,291 g ; 0,90 mmol) avec un rendement de 90 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 8.54 (s_{élargi}, 4H, NH₂), 8.21 (s, 2H, H_{triazole}), 4.44 (m, 4H, CH₂), 4.08 (s, 4H, CH₂), 1.78 (m, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 140.2, 124.5, 48.7, 33.8, 26.8.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3124, 3079, 3000, 2950, 1657, 1591, 1499, 1466, 1340, 1224, 1166, 1085, 1054, 966, 847.



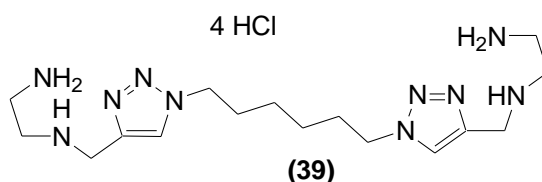
Dichlorhydrate de la C-{1-[4-(6-aminométhyl-[1,2,3]triazol-1-yl)-hexyl]-1H-[1,2,3]triazol-4-yl]-méthylamine (C₁₂H₂₄Cl₂N₈) M = 351.28 g/mol

Le composé **38** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **36** (0,100 g ; 0,59 mmol ; 1 équiv.) et la propargylamine (0,065 g ; 1,18 mmol ; 2 équiv.). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide jaune ocre (0,197 g ; 0,56 mmol) avec un rendement de 94 %.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 8.54 (s_{élargi}, 6H, NH₃), 8.20 (s, 2H, H_{triazole}), 4.37 (t, J = 6.0 Hz, 4H, CH₂), 4.07 (s, 4H, CH₂), 1.80-1.72 (m, 4H, CH₂), 1.28-1.20 (m, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 140.0, 124.4, 49.3, 33.8, 29.5, 25.1.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3126, 3077, 3002, 2930, 1654, 1591, 1498, 1465, 1223, 1163, 1054, 1031, 966, 842.



Tétrachlorhydrate de la N1-[1-(6-{4-[(2-amino-éthylamino)-méthyl-[1,2,3]triazol-1-yl]-hexyl)-1H-[1,2,3]triazol-4-méthyl]-éthane-1,2-diamine (C₁₆H₃₆Cl₄N₁₀) M = 510.34 g/mol

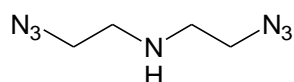
Le composé **32** est obtenu selon la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **36** (0,410 g ; 2,44 mmol ; 1 équiv.) et de **31** brut (0,478 g ; 4,88 mmol, 2 équiv.). On obtient le composé attendu après une recristallisation dans le méthanol sous la forme d'un solide jaune ocre (0,498 g ; 0,97 mmol) avec un rendement de 40 %.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 8.19 (s, 2H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 4.51 (s, 4 H, CH_2), 4.45 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H, CH_2), 3.55-3.50 (m, 4 H, CH_2), 3.47-3.43 (m, 4 H, CH_2), 1.91 (m, 4 H, CH_2), 1.29 (m, 4 H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 135.5, 123.7, 47.8, 40.8, 39.16, 32.6, 26.3, 22.15.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3128, 2990, 2932, 2738, 2704, 2584, 2531, 2417, 1602, 1522, 1466, 1223, 1161, 1056, 1021, 786.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{N}_{10}+\text{H}]^+$ 365.2811 ; trouvé 365.2817 (2.4 ppm).



(41)

Bis-(2-azido-éthyl)-amine ($\text{C}_4\text{H}_9\text{N}_7$) $M = 155.16$ g/mol

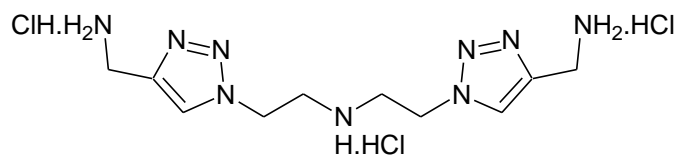
A une solution de chlorhydrate de la bis-(2-chloro-éthyl)-amine (1,000 g ; 5,60 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau (10 mL) sont additionnés NH_4Cl (1,200 g ; 22,40 mmol ; 4 équiv.), NaN_3 (1,820 g ; 28,00 mmol ; 5 équiv.). Le mélange est agité à 80°C pendant 24 heures. On additionne 10 mL d'eau et du NaOH jusqu'à obtenir un $\text{pH} > 12$. Le mélange est extrait dans le chloroforme (5 x 25 mL). Les phases organiques rassemblées, sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées pour obtenir le composé **41**, liquide incolore (0,815 g ; 5,25 mmol) avec un rendement de 93 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.41 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H, CH_2), 2.80 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H, CH_2), 1.38 ($s_{\text{élargi}}$, 1 H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 51.4, 48.2.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3323, 2939, 2835, 2096, 1444, 1338, 1284, 1138, 918, 742.

*Données en accord avec celles de la littérature.*²⁰⁸



(42)

Trichlorhydrate de la bis-[2-(4-aminométhyl-[1,2,3]triazol-1yl)-éthyl]amine
(C₁₀H₂₂Cl₃N₉) M = 374.70 g/mol

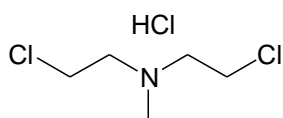
Le composé **42** est obtenu en suivant la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) au départ de **41** (0,155 g ; 1,00 mmol ; 1 équiv.) et de la propargylamine (0,110 g ; 2,00 mmol ; 2 équiv.) dans un mélange eau/MeOH 1:1 (3 mL). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide beige (0,256 g ; 0,69 mmol) avec un rendement de 69 %.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 8.20 (s, 2H, H_{triazole}), 4.88 (t, J = 5.7 Hz, 4H, CH₂), 4.36 (s, 4H, CH₂), 3.77 (t, J = 5.7 Hz, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ : 140.1, 126.0, 46.7, 46.1, 33.9.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) 3142, 3005, 2949, 2991, 2877, 2837, 2787, 2767, 2457, 1658, 1597, 1512, 1450, 1342, 1238, 1151, 1089, 1043, 1026, 881, 833, 759.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₀H₁₉N₉+H]⁺ 266.1842 ; trouvé 266.1837 (-1.8 ppm).



(43)

Chlorhydrate de la bis-(2-chloro-éthyl)-méthylamine (C₅H₁₂Cl₃N) Mw = 192.51 g/mol

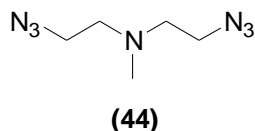
A une solution d'acide formique (1,000 g ; 20,00 mmol, 2 équiv.) dans 2 mL d'une solution aqueuse à 37 % de formaldéhyde, est additionné le chlorhydrate de la bis-(2-chloro-éthyl)-amine (1,794 g ; 10.0 mmol ; 1 équiv.). Le mélange est porté à reflux à 100°C pendant 3 heures. Le mélange est évaporé sous vide puis repris dans l'éther, le précipité blanc obtenu est filtré sous vide pour donner le composé **43**, solide blanc (1,762 g ; 9,15 mmol) avec un rendement de 91 %.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 4.00 (t, J = 5.6 Hz, 4H, CH₂), 3.70 (m, 4H, CH₂), 3.03 (s, 6H, CH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ 56.7, 40.5, 37.2.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3383, 3014, 2982, 2638, 2573, 2524, 2495, 2467, 2438, 2391, 1467, 1383, 1309, 1276, 1126, 1057, 979, 950, 912, 779, 742.

Données en accord avec celles de la littérature.¹⁷⁵



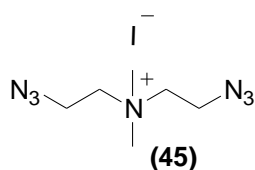
Bis-(2-azido-éthyl)-méthylamine ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_7$) $M = 169.19$ g/mol

Le composé **44** est obtenu selon la procédure précédemment décrite pour **41** au départ de **43** (1,738 g ; 9,00 mmol) et de NaN_3 (2,925 g ; 45,00 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un liquide incolore (1,409 g ; 8,34 mmol) avec un rendement de 92 %.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.00 (t, $J = 6.1$ Hz, 4H, CH_2), 2.64 (t, $J = 6.1$ Hz, 4H, CH_2), 2,32 (s, 6H, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 56.7, 40.5, 37.2.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 2949, 2804, 2096, 1458, 1348, 1280, 1053, 908, 831, 754.

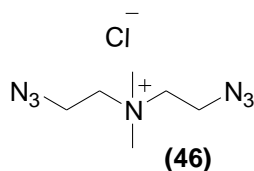


Iodure de bis-(2-azido-éthyl)-diméthylammonium ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{IN}_7$) $M = 311.13$ g/mol

A une solution de **44** (0,800 g ; 4,72 mmol ; 1 équiv.) dans 10 mL de méthanol est ajouté l'iodure de méthyle (3,350 g ; 23,60 mmol ; 5 équiv.). Après 48 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est évaporé pour donner le composé **45** (liquide incolore, 1,468 g ; 4,72 mmol) avec un rendement quantitatif.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 4.07 (m, 4H, CH_2), 3.75 (t, $J = 5.5$ Hz, 4H, CH_2), 3.31 (s, 6H, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 63.1, 52.2, 44.7.



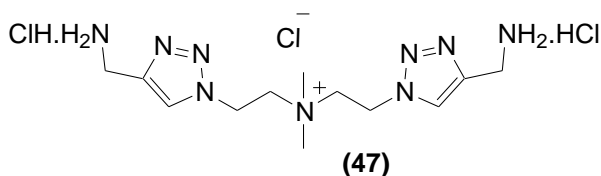
Chlorure du Bis-(2-azido-éthyl)-diméthyl-ammonium (C₆H₁₄ClN₇) M = 219.68 g/mol

Le composé **45** est passé sur résine Dowex Marathon (échangeuse d'anions chargée en Cl⁻) pour donner **46**, liquide incolore avec un rendement quantitatif.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 3.99 (m, 4H, CH₂), 3.68 (m, 4H, CH₂), 3.24 (s, 6H, CH₃)

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ : 62.9, 51.9, 44.5.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3014, 2945, 2825, 2106, 1479, 1357, 1292, 1251, 1030, 943, 918.



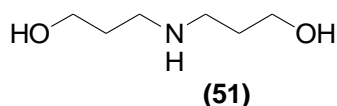
Dichlorhydrate du chlorure de bis-(2-[4-aminométhyl-[1,2,3]triazol-1yl)-éthyl)-diméthyl-ammonium (C₁₂H₂₆Cl₃N₉) M = 402.75 g/mol

Le composé **47** est obtenu en suivant la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) à partir de **46** (0,220 g ; 1,00 mmol ; 1 équiv.) et de la propargylamine (0,116 g ; 2,00 mmol ; 2 équiv.) dans un mélange eau/MeOH 1:1 (4 mL). Le précipité formé est hygroscopique, le mélange est évaporé sous pression réduite, pour donner solide beige conservé tel quel.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 8.30 (s, 2H, H_{triazole}), 5.10 (t, J = 6.6 Hz, 4H, CH₂), 4.36 (s, 4H, CH₂), 4.15 (t, J = 6.6 Hz, 4H, CH₂), 3.27 (s, 6H, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ : 140.5, 126.1, 62.6, 51.5, 43.8, 33.9.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₂H₂₄N₉]⁺ 294.2155 ; trouvé 294.2146 (-2.9 ppm).



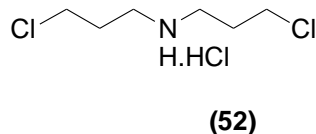
3-(3-Hydroxy-propylamino)-propan-1-ol (C₆H₁₅NO₂) M = 133.19 g/mol

A une solution de 3-amino-propan-1-ol (24,290 g ; 317,00 mmol ; 2,0 équiv.) dans 70 mL d'eau est additionné le 3-chloro-propan-1-ol (15,000 g ; 158,50 mmol ; 1,0 équiv.). Le mélange est mis à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, on additionne le KOH (13,320 g ; 237,90 mmol ; 1,5 équiv.). L'eau est évaporée sous vide pour donner une huile pâteuse orange qui est filtrée sous vide et reprise avec du dichlorométhane (5 x 10 mL). La phase organique est séchée sur MgSO₄, puis évaporée sous vide pour donner une huile marron. L'huile est distillée sous pression réduite pour donner **51**, liquide incolore (6,340 g ; 47,60 mmol) avec un rendement de 15 %.

RMN ¹H (100 MHz, CDCl₃) δ : 3.92 (sélargi, 2H, OH), 3.58 (t, J = 5.9 Hz, 4H, CH₂), 2.65 (t, J = 6.2 Hz, 4H, CH₂), 1.59 (tt, J = 6.2 Hz, J = 5.9 Hz, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 61.7, 47.9, 31.5.

Données en accord avec celles de la littérature.¹⁷⁸



Chlorhydrate de bis-(3-chloro-propyl)-amine (C₆H₁₄Cl₃N) M = 206.54 g/mol

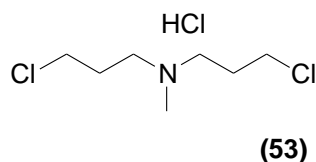
A une solution de **51** (6,349 g ; 47,66 mmol ; 1,0 équiv.) dans 60 mL de CH₂Cl₂ distillé à 0°C est ajouté par petite quantité le SOCl₂ (28,330 g ; 238,12 mmol ; 5,0 équiv.). Le mélange est agité jusqu'à retour à température ambiante sur la nuit, puis il est mis à reflux (40 °C) pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, on ajoute doucement 60 mL de MeOH. Le solvant est évaporé sous vide, puis on additionne goutte à goutte 200 mL d'éther : le chlorhydrate précipite. Le précipité est filtré sous vide, lavé avec de l'éther (2 x 10 mL) pour obtenir le composé **52**, solide blanc (8,570 g ; 41,48 mmol) avec un rendement de 87 %.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 3.72 (t, J = 6.2 Hz, 4H, CH₂), 3.26 (t, J = 7.6 Hz, 4H, CH₂), 2.28-2.15 (m, 4H, CH₂)

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 45.4, 41.6, 28.3.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) 3412, 2949, 2785, 2766, 2733, 2679, 2615, 2428, 2376, 1591, 1467, 1446, 1311, 1261, 1192, 1053, 1037, 1001, 846, 794.

Données en accord avec celles de la littérature.¹⁷⁸



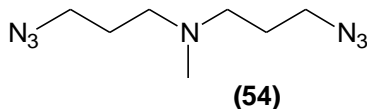
Chlorhydrate de bis-(3-chloro-propyl)-méthylamine ($\text{C}_7\text{H}_{16}\text{Cl}_3\text{N}$) $M = 220.57$ g/mol

Le composé **53** est obtenu selon la procédure précédemment décrite pour **43** au départ de **52** (4,130 g ; 20,00 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un solide blanc (1,876 g ; 8,50 mmol) avec un rendement de 43 %.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 3.73 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H, CH_2), 3.46-3.41 (m, 4H, CH_2), 2.94 (s, 6H, CH_3), 2.32-2.30 (m, 4H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 53.7, 41.4, 40.0, 26.4.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3414, 2964, 2600, 2567, 2540, 2461, 2360, 1489, 1450, 1323, 1288, 955, 788.



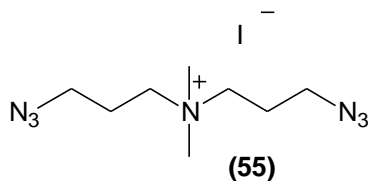
Bis-(3-azido-propyl)-méthylamine ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_7$) $M = 197.24$ g/mol

Le composé **54** est obtenu selon la procédure précédemment décrite pour **41** au départ de **53** (1,753 g ; 7,94 mmol) et de NaN_3 (2,580 g ; 39,70 mmol). On obtient le composé attendu sous la forme d'un liquide incolore (1,281 g ; 6,17 mmol) avec un rendement de 78 %

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 3.30 (t, $J = 6.7$ Hz, 4H, CH_2), 2.37 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H, CH_2), 2.15 (s, 3H, CH_3), 1.69 (tt, $J = 6.7$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 4H, CH_2).

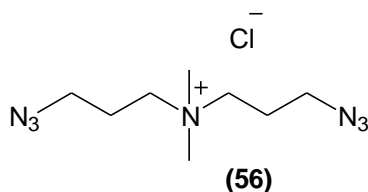
RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ 54.5, 49.4, 41.8, 26.7.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 2951, 2798, 2092, 1456, 1352, 1301, 1255, 1145, 1057, 923, 742.



Iodure de bis-(3-azido-propyl)-diméthyl-ammonium ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{IN}_7$) $M = 339.18 \text{ g/mol}$

A une solution de **54** (1,250 g ; 6,33 mmol ; 1,0 équiv.) dans 20 mL de MeOH est ajouté l'iodure de méthyle (4,492 g ; 31,65 mmol ; 5,0 équiv.). Après 48 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est évaporé pour donner le composé **60** en tant que liquide incolore, avec un rendement quantitatif.



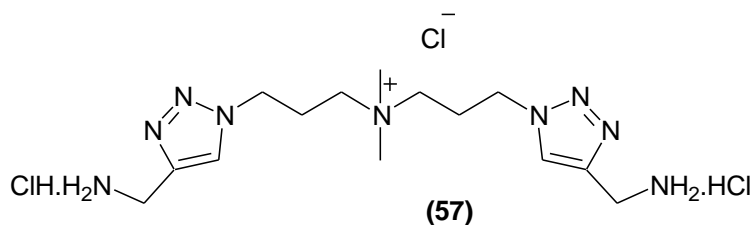
Chlorure de bis-(3-azido-propyl)-diméthyl-ammonium ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{ClN}_7$) $M = 247.73 \text{ g/mol}$

Le composé **55** est passé sur résine Dowex Marathon (échangeuse d'anions chargée en Cl^-) pour donner le composé **61**, liquide incolore avec un rendement quantitatif.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 3.52 (t, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 4H, CH_2), 3.47-3.42 (m, 4H, CH_2), 3.13 (s, 6H, CH_3), 2.12 (tt, $J = 6.6 \text{ Hz}$, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 4H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 61.6, 50.8, 47.8, 21.8.

IR (ν , cm^{-1} , film) : 3018, 2951, 2877, 2100, 1633, 1485, 1359, 1267, 866.



Dichlorhydrate du chlorure de bis-(2-[4-aminométhyl-[1,2,3]triazol-1yl)-propyll]-diméthylammonium
(C₁₄H₃₀ClN₉) M = 430.81 g/mol

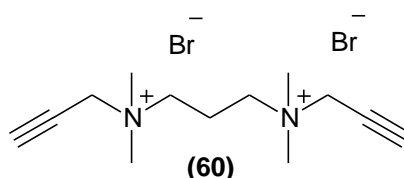
Le composé **57** est obtenu en suivant la procédure générale de la CuAAC (*Procédure a*) à partir de **56** (0,248 g ; 1,0 mmol ; 1,0 équiv.) et de la propargylamine (0,116 g ; 2,00 mmol ; 2,0 équiv.) dans un mélange eau/MeOH 1/1 v/v (4 mL). Le précipité formé est hygroscopique, le mélange est évaporé sous pression réduite, pour donner solide beige conservé tel quel.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 8.18 (s, 2H, H_{triazole}), 4.60 (t, J = 6.6 Hz, 4H, CH₂), 4.37 (s, 4H, CH₂), 3.45-3.40 (m, 4H, CH₂), 3.11 (s, 6H, CH₃), 2.43 (tt, J = 6.6 Hz, J = 8.1 Hz, 4H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ 140.0, 125.7, 61.0, 50.9, 47.1, 34.0, 22.8.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3394, 3122, 2962, 2863, 2627, 23344, 1652, 1606, 1468, 1342, 1225, 1149, 1051, 967, 804.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₄H₂₈N₉]⁺ 322.2468 ; trouvé 322.2459 (-2,7 ppm).



Dibromure de 1,3-bis(N,N-diméthylprop-2-ynylammonio)propane (C₁₃H₂₂Br₂N₂)
M = 366.14 g/mol

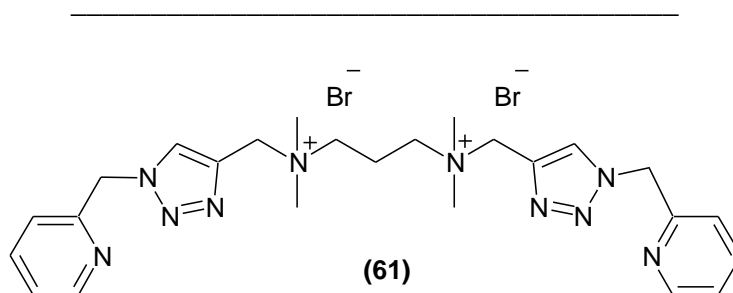
A une solution de *N,N,N',N'*-tetraméthyl-1,3-propanediamine (2,000 g, 15,40 mmol ; 1 équiv.) dans l'acétonitrile (30 mL) refroidie dans un bain de glace à 0°C, est ajouté goutte-à-goutte le bromure de propargyle (6,700 g ; 46,00 mmol, 3 équiv.). La solution est maintenue sous agitation pendant une nuit. Le produit précipite au cours de la réaction. Le solide est filtré sous pression réduite et lavé avec de l'éther pour donner le composé attendu **60**, solide blanc (3,380 g ; 9.24 mmol) avec un rendement de 60 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.60 (d, J = 2.4 Hz, 4H, CH_2), 4.12 (t, J = 4.2 Hz, 2H, CH), 3.48 (m, 4H, 4H, CH_2), 3.20 (s, 12 H, CH_3), 2.32 (m, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 82.5, 70.7, 60.1, 55.0, 51.1, 17.3.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3427, 3184, 3014, 2968, 2918, 2119, 1475, 1448, 1386, 1176, 1004, 906, 887, 711.

AE : Calculé pour $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{N}_2$: C, 42.65, H, 6.06, N, 7.65 ; trouvé : C, 43.02, H, 6.44, N, 7.35.

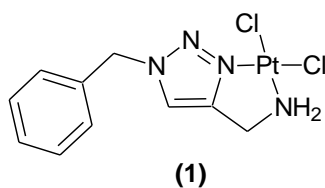


($\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{N}_{10}$) M = 634.41 g/mol

A une solution de **60** (0,184 g ; 0,50 mmol ; 1,0 équiv.) dans 2 mL de *tert*-BuOH, sont ajoutés successivement, le composé **33** (0,135 g ; 1,0 mmol ; 2,0 équiv.), puis l'acétate de cuivre(II) (10 mg ; 60 μmol ; 10 mol %). Après 24 heures, le mélange est filtré sous vide, puis lavé avec du *tert*-butanol (3 mL), puis de l'éther (3 mL). Le produit **61** très hygroscopique est conservé tel quel.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.64 (s, 2H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.56 (d, J = 4.6 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.84 (m, 2H, H_{Ar}), 7.37 (m, 4H, H_{Ar}), 5.82 (s, 4H, CH_2), 4.81 (s, 4H, CH_2), 3.46 (m, 4H, CH_2), 3.12 (s, 12H, CH_3), 2.29 (m, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 152.7, 148.9, 138.7, 134.9, 129.7, 59.6, 58.0, 55.0, 50.7, 17.1.



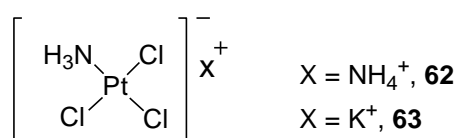
($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Pt}$) M_w = 454.21 g/mol

Le complexe **1** est obtenu en appliquant la procédure générale pour la préparation des complexes de platine en utilisant **28** (50 mg ; 0,22 mmol) et K_2PtCl_4 (92 mg ; 0,22 mmol). On obtient le complexe sous la forme d'un solide beige (65 mg ; 0,14 mmol) avec un rendement de 65 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMF-d_7) δ : 8.46 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.35-7.50 (m, 5H, H_{Ar}), 5.80 (s, 2H, CH_2), 3.53 (s, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMF-d_7) δ : 136.0, 130.1, 129.8, 129.6, 123.6, 56.2, 43.7.

Données en accord avec celles de la littérature.¹⁶³



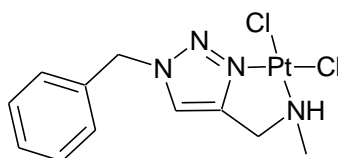
Trichloromonoammineplatinate(II) de potassium $\text{K}[\text{PtCl}_3\text{NH}_3]$ $M = 375.57$ g/mol

A une solution de cisplatine (150 mg ; 0,5 mmol ; 1,0 équiv.) dans l'eau distillée (4 mL) sont additionnés 2 mL d'une d'acide chloridrique concentré. Le mélange est porté à reflux pendant 9 heures jusqu'à disparition totale du cisplatine (solide insoluble jaune). Après retour à température ambiante, le mélange est filtré sur coton et silice afin d'oter le cisplatine n'ayant pas réagi. Le filtrat est évaporé et repris dans dans l'éthanol pour obtenir le sel de platine **62** solide orange (146 mg ; 0,41 mmol) avec un rendement de 82 %.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3209, 1556, 1410, 1231.

Le composé **62** est solubilisé dans un minimum d'eau, puis est passé sur résine Dowex 50 x 8 (chargée en K^+) pour donner le sel de platine **63** sous la forme d'un solide orange après évaporation de l'eau (rendement quantitatif).

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3298, 1622, 1548, 1309.



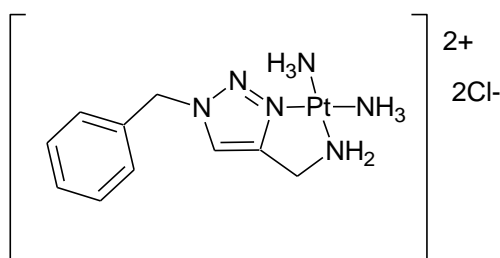
70



Le complexe **70** est synthétisé en appliquant la procédure générale pour la préparation des complexes de platine en utilisant **29** (50 mg ; 0,21 mmol) et K_2PtCl_4 (78 mg ; 0,21 mmol). On obtient le complexe sous la forme d'un solide beige (38 mg ; 0.08 mmol) avec un rendement de 40 %.

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3139, 3107, 1589, 1495, 1454, 1042, 724.

AE : Calculé pour $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{Pt}$: C, 28.22, H, 3.01, N, 11.97 ; trouvé : C, 28.36, H, 3.11, N, 11.94.



72

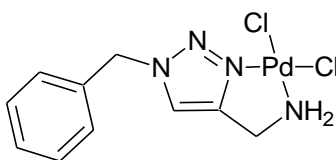


A une solution de cisplatine (90 mg ; 0.30 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (20 mL) est ajouté goutte-à-goutte une solution de chlorhydrate **28** (67 mg ; 0.30 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800 μL) et basifiée avec une solution de KOH 1M (300 μL). Le mélange est agité à 40 °C pendant 5 heures. Il faut réduire le volume réactionnel, afin de faire précipiter le cisplatine n'ayant pas réagi. Le cisplatine est filtré à l'aide d'un filtre Millipore, et le composé attendu est récupéré dans le filtrat. Celui-ci est évaporé pour donner le produit **72** (solide beige) avec un rendement quantitatif.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ : 8.11 (s, 1H, H_{triazole}), 7.48 (m, 5H, H_{Ar}), 5.66 (s, 2H, CH₂), 4.09 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ : 152.2, 133.5, 129.4, 128.7, 122.8, 55.8, 42.1.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{Pt}]^+$ 417.1240 ; trouvé 417.1235. (-2.5 ppm)

**74**

(C₁₀H₁₂Cl₂N₄Pd) Mw = 365.56 g/mol

A une solution de K₂PdCl₄ (109 mg ; 0,33 mmol ; 1 équiv.) dans 1.5 mL d'eau distillée est ajouté goutte-à-goutte une solution de **28** (50 mg ; 0,13 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800 µL). Le mélange est agité à température ambiante et à l'obscurité pendant 12 heures. Le précipité est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'eau (5 mL), puis avec de l'éthanol (5 mL) et de l'éther pour obtenir le complexe de palladium(II) **74**, sous la forme d'un solide jaune (104 mg ; 0,284 mmol) avec un rendement de 86 %.

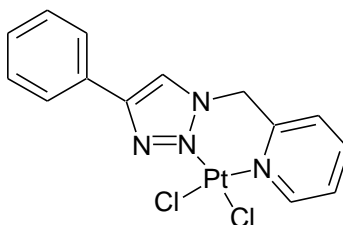
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 8.29(s, 1H, H_{triazole}), 7.40 (m, 5H, H_{Ar}), 5.68 (s, 2H, CH₂), 5.58 (m, 2H, CH₂), 3.68 (m, 2H, NH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ : 152.0, 134.6, 128.8, 128.6, 128.2, 122.3, 54.6, 40.4.

IR (ν, cm⁻¹, ATR) : 3241, 3212, 3109, 1654, 1452, 1254, 1143, 1095, 993, 840, 764, 717.

HR-MS : m/z calculé pour [C₁₀H₁₂Cl₂N₄Pd-Cl]⁺ 328.9785 ; trouvé 328.9775 (5.1 ppm).

AE : Calculé pour C₁₀H₁₂Cl₂N₄Pd: C, 32.86, H, 3.31, N, 15.33 ; trouvé : C, 33.44, H, 4.49, N, 15.56.

**77**

(C₁₄H₁₂Cl₂N₄Pt) Mw = 502.26 g/mol

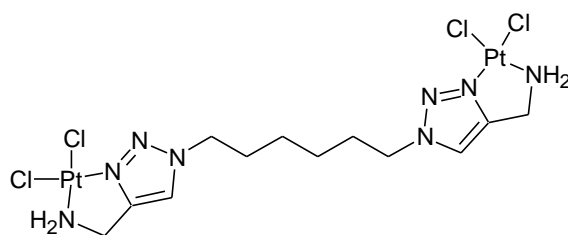
A une solution de K₂PtCl₄ (87 mg ; 0.21 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800 µL) est ajouté goutte à goutte une solution de **34** (50 mg ; 0.21 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800 µL). Le mélange est agité à température ambiante et à l'obscurité pendant 4 jours. Le précipité est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'eau (5 mL), puis avec de l'éthanol (5

mL) et de l'éther pour obtenir le complexe de platine(II) **76** (52 mg ; 0.10 mmol) avec un rendement de 50 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.65 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.56 (d, $J = 3.7$ Hz, H_{Ar}), 7.87-7.81 (m, 3H, H_{Ar}), 7.46-7.41 (m, 2H, H_{Ar}), 7.38-7.30 (m, 3H, H_{Ar}), 5.75 (s, 2H, CH_2).

IR (ν , cm^{-1} , ATR) : 3078, 2988, 1613, 1474, 1440, 1310, 1277, 1230, 1160, 1088, 1030, 974, 834, 766, 723.

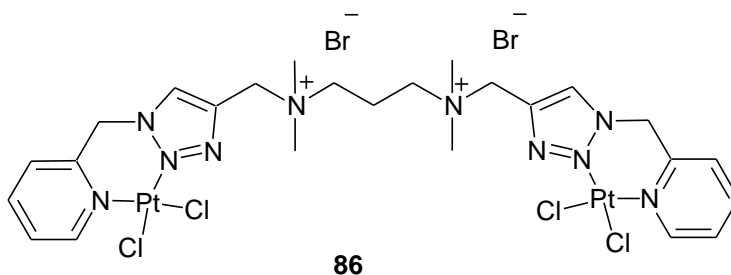
Données en accord avec celles de la littérature.¹⁶⁹



($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{Cl}_4\text{N}_8\text{Pt}_2$) Mw = 810.32 g/mol

Le complexe **79** est obtenu en appliquant la procédure générale pour la préparation des complexes de platine en utilisant **38** (50 mg ; 0.145 mmol), KOH 1M (290 μL , 2 équiv.) et K_2PtCl_4 (124 mg ; 0.29 mmol, 2 équiv.). On obtient le complexe sous la forme d'un solide marron beige (88 mg ; 0.11 mmol) avec un rendement de 75 %.

AE : Calculé pour $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{Cl}_4\text{N}_8\text{Pt}$: C, 17.79, H, 2.74, N, 13.83 ; trouvé : C, 17.85, H, 2.88, N, 13.87.

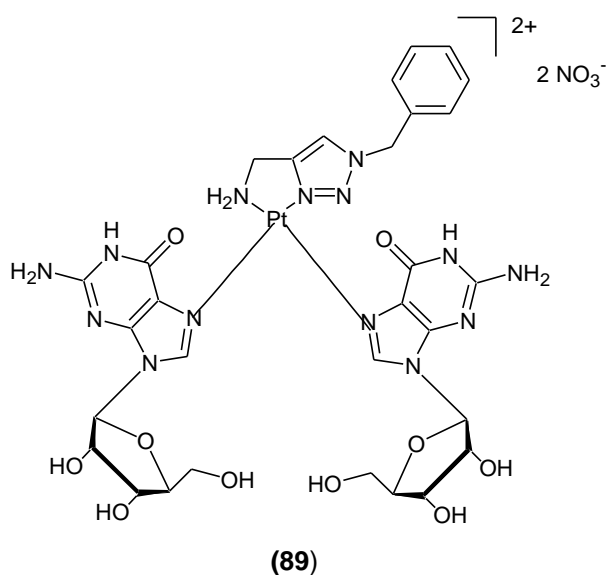


($\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{Cl}_4\text{N}_{10}\text{Pt}_2$) Mw = 1166.38 g/mol

A une solution de K_2PtCl_4 (75 mg ; 0,18 mmol ; 2,0 équiv.) dans l'eau distillée (800 μl) est ajouté goutte à goutte une solution **61** (50 mg ; 0,09 mmol ; 1 équiv.) dans l'eau distillée (800

μL). Le mélange est agité à température ambiante et à l'obscurité pendant 6 jours. Le précipité est filtré sous pression réduite, lavé avec de l'eau (5 mL), puis avec du méthanol (5 mL) et de l'éther pour obtenir le complexe de platine(II) **86**, solide beige (74 mg ; 0.06 mmol) avec un rendement de 70 %.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.57 (s, 2H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 8.51 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.82 (m, 2H, H_{Ar}), 7.37 (m, 4H, H_{Ar}), 5.79 (s, 4H, CH_2), 4.73 (s, 4H, CH_2), 3.46 (m, 4H, CH_2), 3.06 (s, 12H, CH_3), 2.69 (m, 2H, CH_2).



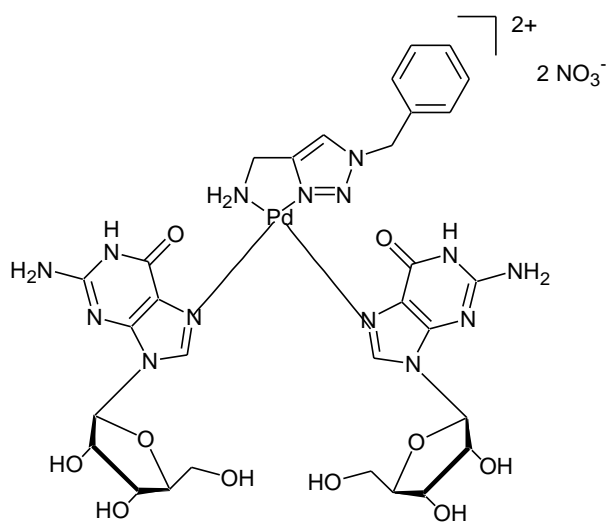
Complexe Pt-guanosine 89 ($\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_{16}\text{O}_{16}\text{Pt}$) $M = 1073.80$ g/mol.

Le complexe de platine **1** (50 mg ; 0,11 mmol ; 1,0 équiv.) est mis sous agitation en présence de AgNO_3 (47,0 mg ; 0,28 mmol ; 2,5 équiv.) dans 2.0 mL de D_2O pendant 3 jours à l'abri de la lumière puis le mélange réactionnel est filtré sur une membrane millipore. Le dérivé diaqua du complexe platiné de couleur jaune est mis en réaction avec la guanosine (77,9 mg ; 0,28 mmol ; 2,5 équiv.) pendant 24 heures. La suspension est de nouveau filtrée sur une membrane Millipore avant de procéder à la purification de l'adduit par HPLC préparative ($\text{MeOH}/\text{AcONH}_4$ 0,1 M 25 :75, pH 5.5, condition isocratique). La fraction contenant l'adduit **89** est lyophilisée. Le solide blanc est dissous dans 20 mL d'eau pour être dessalé à l'aide d'une membrane de dialyse (cut-off 500).

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 8.50 (s, 1H, H^8), 8.37 (s, 1H, H^8), 8.17 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.44-7.38 (m, 3H, H_{Ar}), 7.28 (m, 2H, H_{Ar}), 5.91(d, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{1'}$), 5.90 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H, $\text{H}^{1'}$), 5.53 (s, 2H, CH_2), 4.61 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{2'}$), 4.59 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{2'}$), 4.33 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{3'}$), 4.29 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{3'}$), 4.24-4.17 (m, 4H, $\text{H}^{4'}$, $\text{H}^{4'}$, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 3.88-3.71 (m, 4H, $2\text{H}^{5'}$, $2\text{H}^{5'}$).

RMN ^{195}Pt (D_2O) δ : -2502.

HR-MS : m/z calculé pour $[\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_{14}\text{OPt}]^{2+}$ 474.6272 ; trouvé 474.5974



(90)

Complexe Pd-guanosine 90 ($\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_{16}\text{O}_{16}\text{Pd}$) $M = 985.14$ g/mol.

Le complexe de palladium **74** (46 mg ; 0,13 mmol ; 1,0 équiv.) est mis sous agitation en présence de AgNO_3 (54 mg ; 0,31 mmol ; 2,4 équiv.) dans 2.5 mL de D_2O pendant 2 jours à l'abri de la lumière. Le mélange réactionnel est filtré sur une membrane millipore. Le dérivé diaqua du complexe palladium, présent dans le filtrat (solution jaune) est mis en réaction avec la guanosine (90 mg ; 0,31 mmol ; 2,5 équiv.) pendant 24 heures. La suspension est de nouveau filtrée sur une membrane Millipore avant de procéder à l'analyse RMN de l'adduit $\text{Pd}(\text{guanosine})_2$ **90**.

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ : 8.46 (s, 1H, H^8), 8.31 (s, 1H, H^8), 8.07 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.30-7.23 (m, 3H, H_{Ar}), 7.10 (m, 2H, H_{Ar}), 5.85 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{1'}$), 5.83 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H, $\text{H}^{1'}$), 5.40 (s, 2H, CH_2), 4.57 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{2'}$), 4.54 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H, $\text{H}^{2'}$), 4.31 (t, $J =$

4.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.27 (t, J = 4.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.24-4.18 (m, 1H, H^{4'}), 4.17-4.14 (m, 1H, H^{4'}), 4.12 (s, 2 H, CH₂) 3.87-3.68 (m, 4H, 2H^{5'}, 2H^{5'}).

HR-MS : m/z calculé pour [C₃₀H₃₈N₁₄OPd]²⁺ 430.0965 ; trouvé 430.0948.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ¹ Orvig, C. ; Abrams, M. J. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2201-2204.
- ² Guo, Z. ; Sadler P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1512-1531.
- ³ Alma, A. ; Tasso, B. ; Novelli, F. ; Sparatore, F. *Drug Discovery Today* **2009**, 14, 500-508.
- ⁴ Hartinger, C. G. ; Dyson, P. J. *Chem. Soc.Rev.* **2009**, 38, 391-401.
- ⁵ Peyrone M. *Ann. Chemie Pharm.* **1844**, 51, 1-29.
- ⁶ Rosenberg, B. ; Vancamp, L. ; Trosko, j. E. ; Mansour, V. H. *Nature* **1969**, 222, 385-386.
- ⁷ Rosenberg, B. ; Vancamp, L. ; Krigas, T. *Nature* **1965**, 205, 698-699.
- ⁸ Dhara, S. C. *Indian J. Chem* **1970**, 8, 193-196
- ⁹ Jamieson, E. R. ; Lippard, S. J. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2467-2498.
- ¹⁰ Esaki, T. ; Nakano, S. ; Tatsumoto T. ; Kuroki-Migita, M. ; Mitsugi, K. ; Nakamura, M. ; Niho, Y. *cancer. Res.* **1992**, 52, 6501-6506.
- ¹¹ Nishizawa, Y. ; Sato, B. ; Nishii, K. ; Kishimoto, S. ; Matsumoto, K. *Cancer. Res.* **1989**, 49, 1383-1389.
- ¹² Rabik, C. A. ; Dolan, M. E. *Cancer Treatment Reviews* **2007**, 33, 9-23.
- ¹³ Will, J. ; Wolters, D. A. ; Sheldick, W. S. *Chem. Med. Chem.* **2008**, 3, 1696-1707.
- ¹⁴ Ishida, S. ; Lee, J. ; Thiele, D J. ; Herskowitz, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2002**, 99, 14298-14302.
- ¹⁵ Miller, S. E. ; House D. A. *Inorg. Chim. Acta.* **1989**, 166, 189-197.
- ¹⁶ Speelmans, G. ; Sips, W. ; Grisel, R. J. H. ; Staffhorst, R. ; Fichtinger-Shepman, A. M. J. ; Reedijk, J. ; de Kruijff, B. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes* **1996**, 1283, 60-66.
- ¹⁷ Perez, R. P. *Eur. J. Cancer* **1998**, 34, 1535-1542.
- ¹⁸ Chu, G. J. *biol. Chem.* **1994**, 269, 787-790.
- ¹⁹ Reedijk, J. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2499-2510.
- ²⁰ Fichtinger-Shepman, A. M. J. ; van der Veer, J. L. ; den Hartog J. H. J. ; Lohman, P. H. M. ; Redijk, J. *Biochemistry*, **1985**, 24, 707-713.
- ²¹ Reedijk, J. *Chem. Commun.* **1996**, 801-806
- ²² Brabec, V. ; Kasparkova, J. *Drug resistance updates* **2002**, 5, 147-161.
- ²³ Yarema, K. J. ; Lippard, S. J. ; Essigmann, J. M. *Nucleic Acids Res.* **1995**, 23, 4066-4076.
- ²⁴ Yang, D. ; van Boom, S. S. G. E. ; Reedijk, J. ; van Boom, J. H. ; Wang, A. H.-J. *Biochemistry* **1995**, 34, 12912-12920.
- ²⁵ Ohndorf, U.-M. ; Rould, M. A. ; He, Q. ; Pabo, C. O. ; Lippard S. J. *Nature* **1999**, 399, 708-712.
- ²⁶ Kartalou, M. ; Essigmann, J. M. *Mutat. Res.* **2001**, 478, 1-21.
- ²⁷ Kartalou, M. ; Essigmann, J. M. *Mutat. Res.* **2001**, 478, 23-43.
- ²⁸ Dornish, J. M. ; Pettersen, E. O. *Cancer Lett.* **1989**, 1, 63-68.
- ²⁹ Samimi, G. ; Katano, K. ; Holzer, A. K. ; Safaei, R ; Howell, S. B. *Mol. Pharmacol.* **2004**, 66, 25-32.
- ³⁰ Kuo, M. T. K. ; Chen, H. H. W. ; Song, I.-S. ; Savaraj, N. ; Ishikawa, T. *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, 26, 71-83.
- ³¹ Gibson, D. *Dalton Trans.* **2009**, 10681-10689.
- ³² Ishikawa, T. ; Ali-Osman, F. *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 20116-20125.
- ³³ Goto, S. ; Yoshida, K. ; Morikawa, T. ; Urata, Y. ; Suzuki, K. ; Kondo, T. *Cancer Res.* **1995**, 55, 4297-4301.
- ³⁴ Desoize, B. ; Madoulet, C. *Critical Reviews in oncology/Hematology* **2002**, 42, 317-325.
- ³⁵ Lebwohl, D. ; Canetta, R. *Eur. J. Cancer.* **1998**, 34, 1522-1534.
- ³⁶ Uchida, N. ; Takeda, Y. ; Hojo, K. ; Maekawa, R. ; Sugita, K. ; Yoshioka, T. *Eur. J. Cancer.* **1998**, 34, 1796-1801
- ³⁷ Raymond, E., Chaney, S. G. ; Taamma, A. ; Cvitkovic, E. *Ann. Oncol.* **1998**, 9, 1053-1071

- ³⁸ Raynaud, F. I. ; Boxall, F. E. ; Goddard, P. M. ; Valenti, M. ; Jones, M. ; Murree, B. A., Abrams, M ; Kelland, L.R. *Clin. Cancer res.* **1997**, 3, 2063-2074.
- ³⁹ Amtmann, E. ; Zöller, M. ; Wesch, H ; Schilling, G. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, 47, 461-466.
- ⁴⁰ Boulikas, T. *Cancer Therapy* **2007**, 5, 351-376.
- ⁴¹ Gianasi, E. ; Evagorou, E. G. ; Keddle, A. ; Wilson, G. ; Duncan, R. *Eur. J. Cancer* **1999**, 35, 994-1002.
- ⁴² Loskotová, H. ; Brabec, V. *Eur. J. Biochem.* **1999**, 266, 392-402.
- ⁴³ Holmes, R. J. ; McKeage, M. J. ; Murray, V. ; Denny, W. A. ; McFadyen, W. D. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, 85, 209-217.
- ⁴⁴ Gibson, D ; Binyamin, I. ; Haj, M. ; Ringel, I. ; Ramu, A. ; Katzhendler, J. *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, 32, 823-831.
- ⁴⁵ Kalayda, G. V. ; Jansen, B. A. J. ; Wielaard, P. ; Tanke, H. J. ; Redijk, J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, 10, 305-315.
- ⁴⁶ Pérez, J. M. ; Fuertes, M. A. ; Alonso, C. ; Navarro-Ranninger, C. *Critical Reviews in oncology/Hematology* **2000** 35, 109-120.
- ⁴⁷ Farrell, N. ; Kelland, L. R. ; Roberts, J. D. ; van Beusichem, M. *Cancer Res.* **1992**, 52, 5065-5072.
- ⁴⁸ Coluccia, M. ; Boccarelli, A. ; Mariggio, M. A. ; Cardellicchio, N. ; Caputo, P. ; Intini, F. P. ; Natile, G. *Chem.-Biol. Interact.* **1995**, 98, 251-266.
- ⁴⁹ Montero, E. I. ; Diaz, S. ; Gonzalez-Vadillo, A. M. ; Perez, J. M. ; Alonso, C ; Navaroo-Ranninger, C. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4264-4268.
- ⁵⁰ Skande, M. ; Retailleau, P. ; Bourrié, B. ; Schio, L. ; Mailliet, P. ; Marinetti, A. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2146-2154.
- ⁵¹ Choy, H. ; Park, C. ; Yao, M. *Clin. Cancer res.* **2008**, 14, 1633-1638.
- ⁵² Mackay, F. S. ; Woods, J. A. ; Moseley, H. ; Ferguson, J. ; Dawson, A. ; Parsons, S. ; Sadler P. J. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 3155-3161.
- ⁵³ Roberts, J. D. ; van Houten, B. ; Qu, Y. ; Farrell, N. P. *Nucleic Acids Res.* **1989**, 17, 9719-9733.
- ⁵⁴ Kraker, A. J. ; Hoeschele, J. D. ; Elliott W. L., Showalter, H. D. H. ; Sercel A. D., Farrell N. P. *J. Med. Chem* **1992**, 35, 4526-4532.
- ⁵⁵ Farrell, N. ; Qu, Y. ; hacher, M. P. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 2179-2184.
- ⁵⁶ Roberts, J. D. ; Peroutka, j. ; Farrell, N. *J. Inorg. Biochem.* **1999**, 77, 51-57
- ⁵⁷ Jansen, B. A. J. ; van der Zwan, J. ; den Dulk, H. ; Brouwer J. ; Reedijk, J. *J. Med. Chem.* **2001** 44, 245-249.
- ⁵⁸ Rauter, H ; Di Domenico, R. ; Menta, E ; Oliva, A. ; Qu, Y. ; Farrell, N. *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 3919-3927.
- ⁵⁹ Manzotti, C. ; Pratesi, G. ; Renta, E. ; Di Domenico R. ; Cavalletti, E. ; Fiebig H. H. ; Kelland L. R. ; Farrell, N. ; Polizzi, D. ; Suprimo, R. ; Pezzoni, G. ; Zunino, F. *Clinical Cancer Research* **2000**, 6, 2626-2634.
- ⁶⁰ Komeda, S. ; Moulaei, T. ; Woods, K. K. ; Chikuma, M. ; Farell, N. P. ; Williams L. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 16092-16103.
- ⁶¹ Komeda, S. ; Lutz, M. ; Spek, A. L. ; Chikuma, M. ; Reedijk, J. *J. Inorg Chem.* **2000**, 39, 4230-4236.
- ⁶² Magistrato, A. ; Ruggerone, P. ; Spiegel, K. ; Carloni, P. ; Reedijk, J. *J. Phys. Chem. B.* **2006**, 110, 3604-3613
- ⁶³ Broomhead, J. A. ; Randina L.M. ; Sterns M. *Inorg Chem.* **1992**, 31, 1880-1889.
- ⁶⁴ Broomhead, J. A. ; Lynch, M. J. *Inorg. Chim. Acta* **1995**, 240, 13-17.
- ⁶⁵ Cooke, M. S. ; Evans, M. D. ; Dizdaroglu, M. ; Lunec, J. *FASEB J.* **2003**, 17, 1195-1214.

-
- ⁶⁶ Swiderek, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4056-4059.
- ⁶⁷ Sinsha, R. P. ; Hader, D.-P. *PhotoChem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 225-236.
- ⁶⁸ Vako, M. ; Morris, H. ; Cronin, M. T. D. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 1161-1208.
- ⁶⁹ Slupphaug, G. ; Kalvi, B. ; Krokan, H. E. *Mutat. Res.* **2003**, *531*, 231-251.
- ⁷⁰ Burrows, C. J. ; Muller, J. G. *Chem Rev.* **1998**, *98*, 1109-1152.
- ⁷¹ Mancin, F. ; Scrimin, P. ; Tecilla, P. ; Tonellato, U. *Chem. Commun.* **2005**, 2540-2548.
- ⁷² Pogozelski, W. K. ; Tullius, T.D. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1089-1107.
- ⁷³ David, S. S. ; Williams, S. D. *Chem Rev.* **1998**, *98*, 1221-1261.
- ⁷⁴ Liu, C. ; Yu, S. ; Li, D. ; Liao, Z. ; Sun, X. ; Xu, H. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 913-922.
- ⁷⁵ Claussen, C. A. ; Long, E. C. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2797-2816.
- ⁷⁶ Pogozelski, W. K. ; McNeese, T. J. ; Tullius, T. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6428-6433.
- ⁷⁷ Sigman, D.S. ; Graham, D. R. ; Daurora, V. ; Stern, A. M. *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 12269-12272.
- ⁷⁸ Papavassiliou, A. *Biochem. J.* **1995**, *305*, 345-357.
- ⁷⁹ Sigman, D. S. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 180-186.
- ⁸⁰ Lu, L. P. ; Zhu, M. L. ; Yang, P. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 31-36.
- ⁸¹ Robertazzi, A. ; Magistrato, A. ; de Hoog, P. ; Carloni, P. ; Reedijk, J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5873-5881.
- ⁸² Thederahn, T. B. ; Kuwabar, M. D. ; Larsen, T. A. ; Sigman D.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4941-4946.
- ⁸³ Stochert J. C. *J. Theor. Biol.* **1989**, *137*, 107-111.
- ⁸⁴ Sigman, D. S. ; Mazumder, A. ; Perrin, D. M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2295-2316.
- ⁸⁵ Bales, B. C. ; Kodama, T. ; Weledji, Y. N. ; Pitié, M. ; Meunier, B. ; Greenberg, M. M. *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 5371-5379.
- ⁸⁶ Marshall, L. E. ; Graham, D. R. ; Reich, K. A. ; Sigman D. S. *Biochemistry* **1981**, *20*, 244-250.
- ⁸⁷ Johnson, G. R. A. ; Nazhat, N. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1990-1994.
- ⁸⁸ Goyne, T. E. ; Sigman D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2846-2848.
- ⁸⁹ Zheng, Y. ; Sheppard, T. L. *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, *17*, 197-207.
- ⁹⁰ Bales, B. C. ; Pitié, M. ; Meunier, B. ; Greenberg, M. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9062-9063.
- ⁹¹ Pitié, M. ; Pratviel, G. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1018-1059.
- ⁹² Meijler, M. M. ; Zelenko, O. ; Sigman D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1135-1136.
- ⁹³ Mehta, G. ; Karmakar, S. ; Chattopadhyay, S. K. ; *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5013-5017.
- ⁹⁴ Giese, B. ; Beyrich-Graf, X. ; Erdmann, P. ; Giraud, L. ; Imwinkelried, O. ; Muller, S. N. ; Schwitter, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6146-6147.
- ⁹⁵ Burger, R. M. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1153-1169.
- ⁹⁶ Ogibin, Y. N. ; Terent'ev, A. O. ; Kutlin, A. V. ; Nikishim, G. I. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1321-1324.
- ⁹⁷ Pratviel, G. ; Bernadou, B. ; Meunier, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 746-769.
- ⁹⁸ Chirika, M. ; Tomizawa, Y. ; Fukita, D. ; Sugizaki, T. ; Sugawara, N. ; Yamazaki, T. ; Sasano, A. ; Shindo, H. ; Palaniandavar, M. ; Antholine, W. E. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89*, 163-173.
- ⁹⁹ Dhar, S. ; Senapati, D. ; Das, P. K. ; Chattopadhyay, P. ; Nethaji, M. ; Chakravarty, A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12118-12124.
- ¹⁰⁰ Macia, B. ; Garcia, I. Villa, M. V. ; Borrás, J. ; Gonzalez-Alvarez, M. ; Castineiras, A. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96*, 367-374.
-

- ¹⁰¹ Garcia-Raso, A. ; Fiol, J. J. ; Adrover, B. ; Moreno, V. ; Mata, I. ; Espinosa, E. Molins, E. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 77-86.
- ¹⁰² Pfau, J. ; Arvidson, D. N. ; Youderian, P. ; Pearson, L. L. ; Sigman, D. S. *Biochemistry* **1994**, *33*, 11391-11403.
- ¹⁰³ Francois, J. C. ; Saisonbehmoaras, T. ; Barbier, C. ; Chassignol, M. ; Thuong, N. T. ; Helene, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1989**, *86*, 9702-9703.
- ¹⁰⁴ Zaid, A. ; Sun, J. S. ; Nguyen, C. H. ; Bisasagni, E ; Garestier, T. ; Grierson, D. S. ; Zain, R. *ChemBioChem.* **2004**, *5*, 1550-1557.
- ¹⁰⁵ Chen, C. H. B. ; Mazumder, A. ; Constant, J.-F ; Sigman, D. S. *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 69-77.
- ¹⁰⁶ Robertazzi, A. ; Vargiu, A. V. ; Magistrato, A. ; Ruggerone, P. ; Carloni, P. ; de Hoog, P. ; Reedijk, J. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 10881-10890.
- ¹⁰⁷ Pitié, M. ; Boldron, C. ; gornitzka, H. ; Hemmert, C. ; Bonnadieu, B. ; Meunier B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 528-540.
- ¹⁰⁸ Pitié, M. ; Sudres, B. ; Meunier, B. *Chem. Comm.* **1998**, 2597-2598.
- ¹⁰⁹ Pitié, M. ; van Horn, J. D. ; Brion, D. ; Burrows, C. J. ; Meunier, B. *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 892-900.
- ¹¹⁰ Pitié, M. ; Meunier, B. *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 604-611.
- ¹¹¹ Boldron, C. ; Ross, S. A. ; Pitié, M ; Meunier, B. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 1013-1020.
- ¹¹² de Hoog, P. ; Boldron, C. ; Gamez, P. ; Sliedregt-Bol, K. ; Roland, I. ; Pitié, M. ; Kiss, R. ; Meunier, B. ; Reedijk, J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3148-3152.
- ¹¹³ de Hoog, P. ; Pitié, M. ; Amadei, G. ; Gamez, P. ; Meunier, B. ; Kiss, R. ; Reedijk, J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2008**, *13*, 575-586.
- ¹¹⁴ Lamour, E. ; Routier, S. ; Bernier, J.-L. ; Catteau, J.-P. ; Bally, C. ; Vezin, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1862-1869.
- ¹¹⁵ Maheswari, P. U. ; Roy, S. ; den Dulk, H. ; Barends, S. ; van Wezel, G. ; Kozlevcar, B. ; Gamez, P. ; Redijk, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 710-711.
- ¹¹⁶ Tu, C. ; Shao, Y. ; Gan, N. ; Xu, Q. ; Guo, Z. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 4761-4766.
- ¹¹⁷ Patwardhan, A. ; Cowan, J. A. *Chem. Commun.* **2001**, 1490-1491.
- ¹¹⁸ Balenci, D ; Bonechi, G. ; D'Amelio, N. ; Gaggelli, E. ; Gaggelli, N. ; Molteni, E. ; Valensin, G. ; Szczepanik, W ; Dziubz, M. ; Swiecicki, G. ; Jerowska-Bojczuk, M. *Dalton Trans.* **2009**, 1123-1130.
- ¹¹⁹ Kolb, H. C. ; Finn, M. G. ; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- ¹²⁰ Kolb, H. C. ; Sharpless, K. B. *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128-1137.
- ¹²¹ Huisgen, R. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Ed.: Padwa, A.), Wiley, New York, **1984**, 1-176.
- ¹²² Tornoe, C. W. ; Christensen, C. ; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- ¹²³ Rostovtsev, V. V. ; Green, L. G. ; Fokin, V. V. ; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- ¹²⁴ Golas, P. L. ; Tsarevsky, N. V. ; Sumerlin, B. S. ; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2006**, *39*, 6451-6457.
- ¹²⁵ Zhang, L. ; Chen, X. ; Xue, P. ; Sun, H. H. Y. ; Williams, I. D., Sharpless, K. B. ; Fokin, V. V. ; Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.
- ¹²⁶ Medal, M. ; Tornoe, C. W. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2982-3015.
- ¹²⁷ Chan, T. R. ; Hilgraf, R. ; Sharpless, K. B. ; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853-2855.
- ¹²⁸ Hong, V. ; Presolski, S. I. ; Ma, C. ; Finn, M. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9879-9883.

- ¹²⁹ Radionov, V. O. ; Presolski, S. I. ; Diaz Diaz, D. ; Fokin, V. V. ; Finn, M.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12705-12712.
- ¹³⁰ Sen Gupta, S. ; Kuzelka, J. ; Singh, P. ; Lewis, W. G. ; Manchester, M. ; Finn, M. G. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1572-1579.
- ¹³¹ Mantovani, G. ; Ladmiral, V. ; Tao, L. ; Haddleton, D. M. *Chem. Commun.* **2005**, 2089-2091.
- ¹³² Li, F. ; Hor, T. S. A. *Chem Eur. J.* **2009**, *15*, 10585-10592.
- ¹³³ Meng, J. C. ; Fokin, V. V. ; Finn M. G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4543-4546.
- ¹³⁴ Campbell-Verduyn, L. S. ; mirfeizi, L. ; Dierckx, R. A. ; Elsinga, P. H. ; Feringa, B. L. *Chem. Commun.* **2009**, 2139-2141.
- ¹³⁵ Bai, S.-Q. ; Koh, L. L. ; Hor, T. S. A. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1207-1213.
- ¹³⁶ Brotherton, W. S. ; Michaels, H. A. ; Simmons, J. T. ; Clark, R. J. ; Dalal, N. S. ; Zhu, L. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4954-4957.
- ¹³⁷ Bock, V. D. ; Hiemstra, H. ; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51-68.
- ¹³⁸ Tanaka, K. ; Kageyama, C. ; Fukase, K. *Tetrahedron. Lett.* **2007**, *48*, 6475-6479.
- ¹³⁹ Candelon, N. ; Lastécouères, D. ; Diallo, A. K. ; Ruiz Aranzaes, J. ; Astruc, D. ; Vincent, J.-M. *Chem. Commun.* **2008**, 741-743.
- ¹⁴⁰ Özçubukçu, S. ; Ozkal, E. ; Jimeno, C. ; Pericàs, M. A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4680-4683.
- ¹⁴¹ Fabrizzi, P. ; Cicchi, S. ; Brandi, A. ; Sperotto, E. ; van Koten, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5423-5430.
- ¹⁴² Diez-Gonzalez, S. ; Correa, A. ; Cavallo, L. ; Nolan, S. P. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7558-7564.
- ¹⁴³ Diez-Gonzalez, S. ; Nolan, S. P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8881-8884.
- ¹⁴⁴ Himo, F. ; Lovell, T. ; Hilgraf, R. ; Rostovtsev, V. V. ; Noodleman, L. ; Sharpless, K. B. ; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.
- ¹⁴⁵ Orgueira, H. A. ; Fokas, D. ; Isome, Y. ; Chan, P. C.-M. ; Baldino, C. M. *Tetrahedron. Lett.* **2005**, *46*, 2911-2914.
- ¹⁴⁶ Lipshutz, B. H. ; Taft, B. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8235-8238.
- ¹⁴⁷ Chassaing, S. ; Kumarraja, M. ; Sani Souna Sido, A. ; Pale, P. ; Sommer, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 883-886.
- ¹⁴⁸ Tron, G. C. ; Pirali, T. ; Billington, R. A. ; Canonico, P. L. ; Sorba, G. ; Genazzani, A. A. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278-308.
- ¹⁴⁹ Angelo, N. G. ; Arora, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17134-17135.
- ¹⁵⁰ Bock, V. D. ; Speijer, D. ; Hiemstra, H. ; van Maarseveen, J. H. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 971-975.
- ¹⁵¹ Oh, K. ; Guan, Z. *Chem. Commun.* **2006**, 3069-3071.
- ¹⁵² Roy, O. ; Faure, S. ; Théry, V. ; Didierjean, C. ; TAILLEFUMIER, C. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 921-924.
- ¹⁵³ Wu, P. ; Feldman, A. K. ; Nugent, A. K. ; Hawker, C. J. ; Scheel, A. ; Voit, B. ; Pyun, J. ; Fréchet J. M. J. ; Sharpless, K. B. ; Fokin V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3928-3932.
- ¹⁵⁴ Devaraj, N. K. ; Miller, G. P. ; Ebina, W. ; Kakaradov, B. ; Collman, J. P. ; Kool, E. T. ; Chidsey, C. E. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8600-8601.
- ¹⁵⁵ Bryan, M. C. ; Lee, L. V. ; Wong, C.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3185-3188.
- ¹⁵⁶ Lewis, W. G. ; Green, L. G. ; Grynszpan, F. ; Radic, Z. ; Carlier, P. R. ; Taylor, P. ; Finn, M. G. ; Sharpless K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.
- ¹⁵⁷ Moore, D. S. ; Robinson S. D. *Adv. Inorg. Chem.* **1988**, *32*, 171-239.
- ¹⁵⁸ Liu, D. ; Gao, W. ; Dai, Q. ; Zhang, X. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4907-4910.
- ¹⁵⁹ Detz, R. J. ; Heras, S. A. ; de Gelder, R. ; van Leeuwen, P. W. N. M. ; Hiemstra, H. ; Reek, J. N. H. ; van Maarseveen, J. H. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3227-3230.

- ¹⁶⁰ Nolan, S. P. *N-Heterocyclic carbenes in synthesis*, Wiley VCH, Weinheim, **2006**.
- ¹⁶¹ Mathew, P. ; Neels, A. ; Albrecht, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13534-13535.
- ¹⁶² Mindt, T. L. ; Struthers, H. ; Brans, L. ; Anguelov, T. ; Schweinsberg, C. ; Maes, V. ; Tourwé, D. ; Schibli, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15096-15097.
- ¹⁶³ Maisonia, A. ; Serafin, P. ; Traïkia, M. ; Debiton, E. ; Théry, V. ; Aitken, D. J. ; Lemoine, P. ; Viossat, B. ; Gautier, A. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 298-305.
- ¹⁶⁴ Schiedel, M. S. ; Briehn, C. A. ; Bauerle, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4677-4680.
- ¹⁶⁵ Zhou, Z. ; Fahrni, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8862-8863.
- ¹⁶⁶ Sivakumar, K. ; Xie, F. ; Cash, B. M. ; Long, S. ; Barnhill, H. N. ; Wang, Q. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4603-4606.
- ¹⁶⁷ Speers, A. E. ; Cravatt, B. F. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 535-546.
- ¹⁶⁸ a) Cleare, M. J. ; Hoeschele, J. D. *Bioinorg. Chem.* **1973**, *2*, 187-210. b) Reedijk, J. *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *873*, 198-200.
- ¹⁶⁹ Urankar, D. ; Pinter, B. ; Pevec, A. ; De Proft, F. ; Turel, I. ; Kosmrlj, J. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 4820-4829.
- ¹⁷⁰ Bräse, S. ; Gil, C. ; Knepper, K. ; Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188-5240.
- ¹⁷¹ Narayan, S. ; Muldoon, J. ; Finn, M. G. ; Fokin, V. V. ; Kolb, H. C. ; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 3275-3279.
- ¹⁷² Chanda, A. ; Fokin, V. V. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 725-748.
- ¹⁷³ Teyssot, M.-L. ; Nauton, L. ; Canet, J.-L. ; Cisnetti, F. ; Chevy, A. ; Gautier, A. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 3513-3519.
- ¹⁷⁴ Ritschel, J. ; Sasse, F. ; Maier, M. E. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 78-87.
- ¹⁷⁵ Hansen, T. K. ; Jorgensen, T. ; Jensen, F. ; Thygesen, P. H. ; Chistiansen, K. ; Hursthouse, M. B. ; Harman, M. E. ; Malik, M. A. ; Girmay, B. ; Underhill, A. E. ; Begtrup, M. ; Kilburn, J. D. ; Belmore, K. ; Roespstorff, P. ; Becher, J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1359-1366.
- ¹⁷⁶ Nulwala, H. ; Takizawa, K. ; Odukale, A. ; Khan, A. ; Thibault, R. J. ; Taft, B. R. ; Lipshutz, B. H. ; Hawker, C. J. *Macromolecules* **2009**, *42*, 6068-6074.
- ¹⁷⁷ Roh, J. ; Vavrova, K. ; Hrabalek, A. *Tetrahedron. Lett.* **2010**, *51*, 1411-1414.
- ¹⁷⁸ Granier, C. ; Guillard, R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1197-1208.
- ¹⁷⁹ Farrell, N. ; Kiley, D. M. ; Schimdt, W. ; Hacker, M. P. *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 397-403.
- ¹⁸⁰ Pregosin, P. S. *Annu. Rep. NMR. Spectrosc.* **1986**, *17*, 285-349.
- ¹⁸¹ Oksanen, A. ; Leskelä, M. *Acta Chem. Scand.* **1994**, *48*, 485-489.
- ¹⁸² Eastman, A. *Biochemistry* **1982**, *21*, 6732-6736.
- ¹⁸³ Polak, M. ; Plavec, J. ; Trifonova, A. ; Földesi, A. ; Chattopadhyaya, J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 2835-2843.
- ¹⁸⁴ Chevy, A. ; Teyssot, M.-L. ; Maisonia, A. ; Lemoine, P. ; Viossat, B. ; Traïkia, M. ; Aitken, D. J. ; Alves, G. ; Morel, L. ; Nauton, L. ; Gautier, A. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 3513-3519.
- ¹⁸⁵ Monjardet-Bas, V. ; Chottard, J.-C. ; Kozelka, J. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1144-1150.
- ¹⁸⁶ Komeda, S. ; Bombard, S. ; Perrier, S. ; Reedijk, J. ; Kozelaka, J. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96*, 357-366.
- ¹⁸⁷ Redon, S. ; Bombard, S. ; Elizondo-Riojas, M.-A. ; Chottard, J.-C. *Biochemistry* **2001**, *40*, 8463-8470.
- ¹⁸⁸ Teyssot, M.-L. ; Jarousse, A.-S. ; Manin, M. ; Chevy, A. ; Roche, S. ; Norre, F. ; Beaudoin, C. ; Morel, L. ; Boyer, D. ; Mahiou, R. ; Gautier, A. *Dalton Trans.* **2009**, 6894-6902.
- ¹⁸⁹ Hickey, J. L. ; Ruhayel, R. A. ; Barnard, P. J. ; Baker, M. V. ; Bernes-Price, S. J. ; Filipovska, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12570-12571.

-
- ¹⁹⁰ Ray, S. ; Mohan, R. ; Singh, J. K. ; Samantaray, M. K. ; Shaikh, M. M. ; Panda, D. ; Ghosh, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15042-15023.
- ¹⁹¹ Medvetz, D. A. ; Hindi, K. M. ; Panzner, M. J. ; Ditto, A. J. ; Yun, Y. H. ; Youngs, W. J. ; *Met.-Based Drugs*, **2008**, 7-14.
- ¹⁹² Teyssot, M.-L. ; Chevry, A. ; Traïkia, M. ; El-Ghozzi, M. ; Avignant, D. ; Gautier, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 6322-6326.
- ¹⁹³ Creswell, C. J. ; Allred, A. L. *J. Phys. Chem.* **1962**, *66*, 1469-1472.
- ¹⁹⁴ Pakhomova, S. V. ; Proskurnin, M. A. ; Chernysh, V. V. ; Kononets, Y. M. ; Ivanova, E. K. *J. Anal. Chem.* **2001**, *56*, 910-917.
- ¹⁹⁵ Teyssot, M.-L. ; Jarousse, A.-S. ; Chevry, A. ; De Haez, A. ; Beaudoin, C. ; Manin, M. ; Nolan, S. P. ; Diez-Gonzalez, S. Morel, L. ; Gautier, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 314-318.
- ¹⁹⁶ Pitiè, M. ; Croisy, A. ; Carrez, D. ; Boldron, C. ; Meunier, B. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 686-691.
- ¹⁹⁷ a) [AgCl(SIMes)] : De Frémont, P. ; Scott, N. M. ; Stevens, E. D. ; Ramnial, T. ; Lightbody, O. C. ; Macdonald, C. L. B. ; Clyburne, J. A. C. ; Abernethy, C. D. ; Nolan, S. P. *Organometallics* **2005**, *24*, 6301-6309. b) [PdCl₂(IMes)₂] : Lebal, H. ; Janes, M. K. ; Charette, A. B. ; Nolan, S. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5046-5047. c) [Cu(SIMes)₂]PF₆ : Diez-Gonzalez, S. ; Stevens, E. D. ; Scott, N. M. ; Petersen, J. L. ; Nolan, S. P. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 158-168.
- ¹⁹⁸ Baraldi, P. G. ; Petri, D. ; Tabrizi, M. A. ; Fruttarolo, F. ; Saporano, G. ; Baraldi, S. ; Romagnoli, R. ; Moorman, A. R. ; Gessi, S. ; Varani, K. ; Borea, P.A. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2514-2527.
- ¹⁹⁹ Degrand, C. ; Compagnon, P.-L. ; Belot, G. ; Jacquin, D. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1189-1196.
- ²⁰⁰ Kaspukin, G. V. ; Fejer, G. ; Gronlund, J. L. ; McCafferty, D. G. ; Seto, E. ; Etzkorn, F. A. *Org. Lett.* **2003**, 3053-3056.
- ²⁰¹ Paczal, A. ; Bényei, A. C. ; Kotschy, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5969-5979.
- ²⁰² Chang, M.-Y. ; Chen, S.-T. ; Chang, N.-C. *Heterocycles* **2003**, *60*, 99-112.
- ²⁰³ Plush, S. E. ; Gunnlaugsson, T. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1919-1922.
- ²⁰⁴ Srinivasan, R. ; Uttamchandani, M. ; Yao, S. Q. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 713-716.
- ²⁰⁵ Mindt, T. L. ; Schibli, R. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 10247-10250.
- ²⁰⁶ Rolla, F. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4327-4329.
- ²⁰⁷ Lee, J. W. ; Jun, S. I. ; Kim, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2709-2711.
- ²⁰⁸ Krasinski, A. ; Fokin, V. V. ; Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1237-1240.
-